

Aus der Abteilung für Hygiene (Leiter: Prof. Dr. D. Strauch)
des Institutes für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

**Untersuchungen über die Anwendung von Ozon
zur Abtötung von Salmonellen und Milzbrandbazillen
in eiweißreichen flüssigen Medien**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Roland Wörner
Tierarzt aus Heilbronn/Württ.

Gießen 1969

Aus der Abteilung für Hygiene (Leiter: Prof. Dr. D. Strauch)
des Institutes für Hygiene und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

**Untersuchungen über die Anwendung von Ozon
zur Abtötung von Salmonellen und Milzbrandbazillen
in eiweißreichen flüssigen Medien**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Eingereicht von
Roland Wörner
Tierarzt aus Heilbronn/Württ.

Gießen 1969

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät

in Gießen

Dekan: Prof. Dr. H. Tillmann

Berichterstatter: Prof. Dr. D. Strauch

Tag der mündlichen Prüfung: 3. u. 4. Juli 1969



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Besprechung der Literatur	3
1. Charakterisierung der Salmonellen und des Milzbrandbazillus, sowie deren Tenazität in Wasser und Abwasser	3
2. Das Abwasser als Träger von gesundheitsgefährdenden Stoffen und seine Behandlung	5
3. Methoden des Nachweises von Salmonellen und des Milzbrandbazillus im Abwasser	6
4. Die Eigenschaften und die bakterizide Wirkungsweise von Ozon	7
5. Geschichtlicher Überblick	9
6. Die Voraussetzungen zur Entkeimung von Wasser mit Hilfe von Ozon und seine derzeitige, technische Verwendung in der Wasserwirtschaft	12
III. Eigene Untersuchungen	17
A. Material und Methode	
1. Eichung des Ozoneurs	17
2. Versuchsanordnung bei Ozonisierung der Bakteriensuspensionen	19
3. Herstellung der Standard-Bakteriensuspensionen und deren Prüfung	20
a) Salmonellen	20
b) Bacillus anthracis	21

B. Ergebnisse

1. Versuche mit künstlichen Eiweißlösungen verschiedener Konzentrationen	23
a) Salmonellen	23
b) Milzbrandbazillen	28
2. Verwendung von natürlichen eiweißhaltigen Lösungen und die Bestimmung des BSB ₅ nach den Deutschen Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung	31
3. Ozonisierungsversuche mit Salmonellen in Abwässern	35
4. Ozonisierungsversuche mit Bacillus anthracis in Abwässern	39

IV. Besprechung der Ergebnisse	42
--------------------------------	----

V. Schlußfolgerung	45
--------------------	----

VI. Zusammenfassung	48
---------------------	----

VII. Literaturverzeichnis	49
---------------------------	----

VIII. Lebenslauf

I. Einleitung

Noch vor wenigen Jahrzehnten machte die Beseitigung der in Stadt und Land anfallenden Abfallstoffe keine besonderen Schwierigkeiten. Die nach dem 2. Weltkrieg zu verzeichnende rasche wirtschaftliche Entwicklung, insbesondere die Automatisierung und Massenproduktion, anspruchsvollere Lebensgewohnheiten, massiertes Gesellschaftsleben und Bevölkerungszunahme, brachten eine Abfall-Lawine ins Rollen, deren Ende vorläufig nicht abzusehen ist. Kennzeichnend dafür ist, daß sich seitdem nicht nur die Menge, sondern auch die Zusammensetzung der Abfallstoffe erheblich geändert haben. Mit folgenden Zahlen wird zur Zeit gerechnet:

Abwasser	33 Mio. m ³ /Jahr
Klärschlamm	25 Mio. m ³ /Jahr
Müll	14 Mio. t/Jahr
Schlachtabfälle	265 000 t/Jahr
Kot der landw. Nutztiere	135 Mio. t/Jahr

Die Gesamtmenge der in der Bundesrepublik anfallenden Abfallstoffe (ohne Abwasser) wird zur Zeit auf mehr als 200 Millionen Kubikmeter pro Jahr geschätzt. Es ist zu erwarten, daß die Menge an Abfallstoffen in den nächsten Jahren weiterhin zunimmt. Für solche Massen steht nicht genügend Platz zur Beseitigung zur Verfügung.

Abwasser, Klärschlamm, Schlachtabfälle und Kot aus der Massentierhaltung stellen zusätzlich noch ein besonders seuchenhygienisches Problem dar, weil in diesen Stoffen die ganze Skala der bei Mensch und Tier in der Bundesrepublik vorkommenden mikrobiellen Krankheitserreger (Bakterien, Viren, Parasiten) zu erwarten ist.

Eine bedeutende Rolle als Lieferanten von gesundheitlich bedenklichen flüssigen Abfällen spielen die Schlachtanlagen. Es war daher notwendig zu untersuchen, ob infizierte flüssige Abgänge von Schlachtstätten so entseucht werden können, daß das abfließende desinfizierte Abwasser den Vorfluter nicht

mehr schädigen kann. Als ein dazu geeignetes Mittel wird das Ozon angesehen. In Laboratoriumsversuchen wurde deshalb untersucht, unter welchen Bedingungen wässrige eiweißhaltige Lösungen und natürliche Abwässer mit Salmonellen und Milzbrandbazillen durch Anwendung von Ozon entseucht werden können.

II. Besprechung der Literatur

1. Charakterisierung der Salmonellen und des Milzbrandbazillus, sowie deren Tenazität in Wasser und Abwasser

Die Salmonellen gehören zur Ordo Eubacteriales und zur Familia der Enterobacteriaceae. Es sind plumpe, gramnegative, aerobe Stäbchen, etwa 1-2 μ lang. Sie sind alle - mit Ausnahme von *Salmonella gallinarum-pullorum* - beweglich und peritrich begeißelt. Sie werden nach KAUFFMANN und WHITE (23) in serologische Gruppen zusammengefaßt. Sämtliche *Salmonella*-Typen sind als pathogen anzusprechen (LANG 28) und verursachen Paratyphosen, Septikaemie und Gastroenteritis. Fleisch- und Lebensmittelvergiftungen sind bis zu 75 % auf *Salmonella typhimurium* zurückzuführen (ULBRICH 53).

Der Bacillus anthracis gehört zur Familia der Bacillaceae. Er ist ein grampositives, aerobes Stäbchen und stellt mit seiner Größe von etwa 5-6 μ einen der größten Erreger dar. Der Milzbrandbazillus ist als einziger der Familie unbeweglich. Seine versportete Form ist wesentlich widerstandsfähiger als seine vegetative. Milzbrandbazillensporen behalten beim Eintrocknen jahrzehntelang ihre Keimfähigkeit. Gegen Oxydationsmittel in hoher Konzentration sind die Sporen weniger widerstandsfähig (ULBRICH 53).

Aus zahlreichen Literaturangaben ist es bekannt, daß *Salmonellen* und Milzbrandbazillen eine sehr gute Lebensdauer in Wasser und Abwasser besitzen.

Der besseren Übersicht wegen werden die folgenden Literaturzitate in Tabellenform wiedergegeben.

Autor bzw. Autoren	Lebensfähigkeit von <u>Salmonellen</u> im Wasser und Abwasser.
--------------------	---

ROCHAIX (40):	<i>S. typhi</i> in häuslichem Abwasser: 11 Tage
	<i>S. paratyphi B</i> in häuslichem Abwasser: 11 Tage
	In sterilem Abwasser: 600 Tage

HEMMERT-HALSWICK

und GEBAUER (17): Salmonellen im Abwasser: 23 Tage

PFUHL (37): In Wasser (Temp. +7 - +10°C)

S. typhi: 26 Tage

RUCHHOFT (41): S. typhi in Abwasser: 13 Tage

S. paratyphi in Abwasser: 15 Tage

LERCHE (30): Im Wasser (Sommer)

S. typhimurium: 30 Tage

Im Wasser (Winter)

S. typhimurium: 36 Tage

Im Abwasser

S. typhimurium: 36 Tage

SEISER (47): Salmonellen in Abwasser: 21-28 Tage

Autor bzw. Autoren Lebensfähigkeit von Milzbrandsporen in Wasser und in der Erde.

SIRENA und SCAGLIOSI: In feuchter und trockener Erde: 2-3 Jahre

(n. SOBERNHEIM 48) Im Trinkwasser: 17 Monate

In Jauche u.U.: 15 Monate

BOLTON: In gewöhnlichem Wasser: 1 Jahr

(n. SOBERNHEIM 48)

HOCHSTETTER und Milzbrandsporen bleiben im Wasser minde-

SIRENA: stens 3-6 Monate lebensfähig und viru-

(n. SOBERNHEIM 48) lent.

GILLISSEN und LUST Milzbrandbazillen verlieren nach 19 Ta-

(14): gen im Abwasser einer Lederfabrik ihre Virulenz für weiße Mäuse.

2. Das Abwasser als Träger von gesundheitsgefährdenden Stoffen und seine Behandlung

Im Abwasser können theoretisch sämtliche Keime vorhanden sein (SCHAAL 43). LIEBMANN und BOCH (32) wiesen wiederholt Zooparasiten im Abwasser nach.

Die Erreger zahlreicher Viruskrankheiten können ebenso in die flüssigen Abgänge eingeschwemmt werden und Anlaß zu Epidemien geben. In den Industrieabwässern befinden sich vorwiegend Chemikalien und Eiweißabbauprodukte, die toxisch auf Mensch und Tier wirken.

Die engen Beziehungen zwischen Wasser und Abwasser, der Entstehung und Verbreitung zum Beispiel von Salmonellen, wurden schon von zahlreichen Autoren hervorgehoben (BULLING 8; KUDICKE 27; LÜTJE 33; SCHAAL 45; STEINIGER 49, 50; STRAUCH 51; STRAUCH und MÜNKER 52). Verantwortlich für die Infektiosität der Abwässer ist ihr hoher Eiweißgehalt, dieser läßt sie praktisch zu einem Nährmedium für die Keime werden.

SCHAAL (44) stellte fest, daß ab 100 mg Eiweiß/l eine Vermehrung der Bakterien u.U. bis zum Hunderttausendfachen stattfindet.

Nach NAUMANN (35) ist es die Aufgabe der praktischen Hygiene, eine Verbreitung von Krankheitserregern soweit einzuschränken, daß sie nach allgemeinen Erfahrungen für die Umwelt keine Gefahr mehr bedeuten.

Zur Unterstützung der natürlichen Reinigungskraft des Wassers hat der Mensch zu technischen Hilfsmitteln gegriffen. Diese werden heute in unseren Kläranlagen angewandt. Durch die mechanische Methode der Abwasserreinigung werden etwa 35 % der gesamten organischen Substanz und bis zu 50 % der Keime (ROSSBERG n. BERGMANN und GÖTZE 4) dem Abwasser entzogen.

Bei dem chemisch-mechanischen Verfahren werden die nicht absetzbaren Schwebstoffe und ein Teil der Kolloide durch Fällung als Flöckchen abgeschieden und im Absatzbecken gesammelt.

Der Zweck des sich anschließenden biologischen Verfahrens ist es, die nicht mehr absetzbaren Stoffe über die Aufnahme durch Mikroorganismen abzubauen (IMHOFF 21). Dazu gehören das Tropfkörper- und das Belebungsverfahren. Der bei allen Abwasserreinigungsverfahren anfallende Klärschlamm wird gesammelt und einer anaeroben, alkalischen Gärung in Faultürmen unterzogen. Der ausgefaulte Schlamm ist aber noch infektiös (BRUNNER 7; MÜLLER 34). Bei der mechanischen und biologischen Abwasserreinigung wird lediglich eine Keimreduzierung erreicht. Es gilt somit neben Klärung und Desinfektion der Abwässer vorbeugend einzuwirken und zu verhindern, daß größere Eiweiß- und Schmutzstoffe von vornherein in diese gelangen.

3. Methoden des Nachweises von Salmonellen und des Milzbrandbazillus im Abwasser

Um bei der bakteriologischen Untersuchung des Abwassers auf Salmonellen das Wachstum der Begleitflora zu hemmen, wird eine erste Anreicherung der Salmonellen in einem flüssigen Milieu vorgenommen. Dieses begünstigt die meist in der Minoranz vorhandenen Salmonellen gegenüber den Begleitbakterien. In der Literatur sind viele Untersuchungen zur Verbesserung der Methodik des Salmonella-Nachweises aufgeführt (z.B. BELING 2; BRUNNER 7a; ENDO 10; HEINRICH und PULVERER 16; HODER 19; KAUFFMANN 22; KLIGLER 24; LEUCHS 31; PREUSS 38).

Die Züchtung von Bacillus anthracis gelingt auf allen gebräuchlichen Nährböden. Die Eliminierung der Begleitbakterien erfolgt durch Erhitzen des Abwassers auf $+75^{\circ}\text{C}$ 30 Minuten lang. Für den Tierversuch sind weiße Mäuse besonders gut geeignet, sie werden subcutan infiziert. Die an Septikämie eingegangenen Mäuse sind durch Ausstrich und Kultur auf Milzbrand zu untersuchen.

4. Die Eigenschaften und die bakterizide Wirkungsweise von Ozon

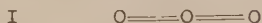
Ozon ist eine allotrope Modifikation des Sauerstoffs. Es kommt in der Natur weder in freier, noch in gebundener Form vor. Der Grund hierfür liegt in seiner chemischen Struktur und seiner außerordentlichen Reaktionsfähigkeit. Lediglich in höheren Luftschichten befindet sich Ozon in wechselnden Konzentrationen. Es ist in der Luft noch in einer Verdünnung von 1 : 500 000 zu riechen, der Geruch erinnert an Stickoxyde bzw. Chlorkalk (RÖMPP 39). Chemisch reines Ozon ist eine tief violett-blau gefärbte Flüssigkeit, die bei $-112,3^{\circ}\text{C}$ siedet.

Konzentrierte Ozon-Sauerstoff- und Ozon-Luft-Gemische sind explosiv. Ozon ist in Wasser löslich, es lösen sich bei 0°C in 1m^3 Wasser 1060 g (FRESENIUS und JANDER 11). Die erhaltenen Ozonlösungen sind jedoch instabil. Die Zersetzungsgeschwindigkeit von Ozon wird ähnlich wie im gasförmigen Aggregatzustand durch die Erhöhung der Temperatur, die Art und Menge gelöster organischer und anorganischer Substanzen, insbesondere aber durch die Anwesenheit eines Alkali-Überschusses beschleunigt (FRESENIUS und JANDER 11).

Ozon zerfällt nach folgender Formel:



Wie aus dieser Formel zu ersehen ist, hat Ozon die Summenformel O_3 ; es hat aber nicht nur eine bestimmte chemische Struktur, sondern es sind grundsätzlich folgende Strukturen denkbar:



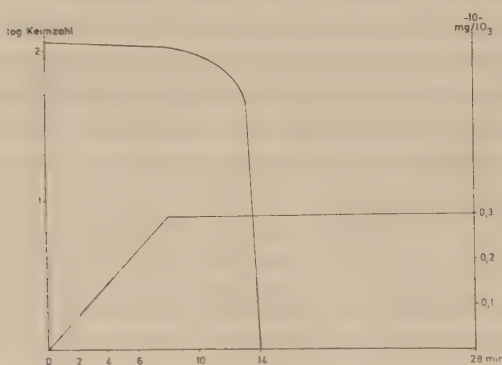
Das Molekulargewicht von Ozon beträgt 48.

Ozon ist das stärkste Oxydationsmittel, das wir kennen. Es oxydiert fast alle Metalle, außer Au, Pt, Jr, zu ihrer höchsten Oxydationsstufe. Es oxydiert Sulfide zu Sulfaten,

Ammoniak zu Salpetersäure, Kohle zu Kohlendioxyd, Jodkalium zu Jod und Silber zu Silber-II-oxyd. Viele organische Farbstoffe werden durch O_3 gebleicht, Gummi wird zerstört.

Die bakterizide Wirkungsweise des Ozons wird im Gegensatz zu Chlor durch eine allgemeine Oxydation der zytoplasmatischen Substanz, und nicht durch eine selektive Schädigung lebenswichtiger Zentren durch Trefferwirkung, hervorgerufen (TIMOFEEFF-RESOVSKI und ZIMMER n. BRINGMANN 5). Das bedeutet, daß kurz vor Eintritt des bakteriziden Effektes noch praktisch 100 % der Keime am Leben sind. Erst nachdem ein stabil verbleibender O_3 -Spiegel erreicht worden ist, werden innerhalb von kurzer Zeit sämtliche Bakterien auf einmal abgetötet.

Zur Veranschaulichung sei hier eine graphische Darstellung nach BRINGMANN (6) wiedergegeben.



Zahl der überlebenden Sporen (120/ml, *B. subtilis*) in Abhängigkeit von der O_3 -Konzentration und der Einwirkungszeit.
(nach BRINGMANN 6)

Nach Erreichen des O_3 -Spiegels von 0,33 mg/l vergingen praktisch nur 4 Minuten bis alle Sporen vernichtet waren.

Beim Einatmen von größeren Mengen Ozon werden die Atemwege gereizt und es tritt Kopfschmerz, Dispnoe und Nasenbluten ein.

Durch stille Entladung im Ozonisator wird trockenes O_2 -Gas zu etwa 15 % nach rascher Abkühlung in O_3 verwandelt.

Zur Gewinnung von 1 kg O_3 benötigt man 10-15 kWh und 3,6-2,3 kg O_2 -Gas (AXT 1).

5. Geschichtlicher Überblick

Die Eigenschaft des Ozons als hervorragendes Oxydationsmittel, besonders von organischen Verbindungen, führte schon bald nach dessen Entdeckung 1840 durch SCHOENBEIN zu der Annahme, daß dieses Gas auf Grund seines aggressiven Reaktionsvermögens als Desinfektionsmittel geeignet sei. Diese Annahme wurde zum Beweis geführt, als OHLMÜLLER (36) 1892 begann, Wasser mit Hilfe von Ozon zu entkeimen.

1891 wurde im Labor der Firma Siemens und Halske bereits eine Ozonanlage gebaut, die zur Herstellung technisch verwendbarer Ozonmengen dienen sollte (KROKE 26). Die Anlage arbeitete mit der sogenannten "Ozonröhre", wobei eine Glimmentladung den Luftsauerstoff in Ozon verwandelte. Es wurde ein Liter Luft durch die Apparatur geschickt, die Durchströmungsgeschwindigkeit in Sekunden gemessen und der Ozongehalt des austretenden Gases mit Hilfe einer 5%igen Kaliumjodidlösung gemessen. Die Trocknung der Luft erfolgte durch Verwendung von konzentrierter Schwefelsäure. Nach Angabe der Firma Siemens und Halske konnte, bei Verwendung von gewöhnlichen Wechselstrommaschinen und Induktoren, mit 1 PS/sec 3 mg Ozon aus atmosphärischer Luft erzeugt werden. Dies heißt, daß für 1 g erzeugtes Ozon 70 W benötigt wurden. OHLMÜLLER (36) stellte damals ein Verhältnis zwischen durchströmender Luft in der Zeiteinheit und erzeugter Ozonmenge fest. Er berichtete, daß die erzeugte Ozonmenge um so größer ist, je langsamer die Luft den Apparat passiert.

Nach heutigen Erkenntnissen ist jedoch mit größerer Luftgeschwindigkeit auch die Ozonausbeute um so größer. OHLMÜLLER (36) überprüfte in seinen Versuchen die Einwirkung des Ozons auf Bakterien.

Bei einer Versuchsreihe mit Bakterienaufschwemmungen in destilliertem, sterilisiertem Wasser waren Milzbrandsporen ($3,7 \times 10^6/\text{ml}$) nach Anwendung von 89,9 mg O_3 nach 10 Minuten nicht mehr lebensfähig. Vegetative Formen von *Bacillus anthracis* ($5,7 \times 10^4/\text{ml}$) hingegen schon nach einem Verbrauch von 58,0 mg O_3 nach 10 Minuten.

Zur Abtötung von Typhus- und Cholerabakterien ($1,2 \times 10^7/\text{ml}$) reichten schon 19,5 mg O_3 in 2 Minuten bzw. 16,7-19,5 mg O_3 in 2 Minuten.

Die Ozonisierung von 500 ml Spreewasser mit einer Oxydationsgröße von 5,4 mg O und einem Keimgehalt von $2,2 \times 10^4/\text{ml}$, erbrachte schon nach 83,6 mg O_3 in 10 Minuten einen Entseuchungserfolg.

OHLMÜLLER kam dabei zu unterschiedlichen Ergebnissen in der Desinfektionswirkung von Ozon. Er sah dies im Zusammenhang mit der verschiedengradigen Verunreinigung des Wassers und nahm an, daß das Ozon zuerst zur Oxydation der leblosen, organischen Stoffe herangezogen wird und dann erst, wenn diese bis zu einem gewissen Grade eingetreten ist, auf die lebende und geformte, organische Substanz (Bakterien) zu wirken beginnt. Dies fand er dann auch bestätigt in seinen Versuchen mit Jauche, einer Gartenerdeaufschwemmung und Spreewasser, sowie bei Begasung einer Milzbrandbazillen-Aufschwemmung mit und ohne Zusatz von Hammelblutserum. Nach diesen grundsätzlichen Versuchen zur bakteriziden Wirkungsweise des Ozons wurde eine von Siemens gefertigte Anlage in Berlin aufgestellt. Sie sollte 10 m^3 Spreewasser/h ozonisieren. Das zu behandelnde Wasser wurde in einen Hochbehälter gepumpt, wo es auch gegebenenfalls filtriert werden konnte. Die Anlage hatte eine Einrichtung zum Entfeuchten der Luft und einen Platten-Ozoneur, der mit 10 000 - 15 000 V betrieben wurde. Die Vermischung des Wassers mit dem O_3 -Gasgemisch geschah durch Verrieseln des Spreewassers über Kieselsteine. In einem geschlossenen Turm ließ man dieses von oben nach unten laufen und führte im Gegenstrom von unten die ozonhaltige Luft ein.

Die erzeugte O_3 -Menge betrug etwa $3\text{-}5 \text{ g Ozon}/\text{m}^3$, bei einem Wasserdurchlauf von $10 \text{ m}^3/\text{h}$. In einer Stunde wurden dabei 30 m^3 Luft benötigt. Es wurden also $90\text{-}150 \text{ g O}_3/\text{h}$ produziert und pro m^3 Spreewasser 9 g Ozon zugegeben. Eine Untersuchung hinsichtlich der Aufnahmekapazität des Wassers an O_3 fand nicht statt, sondern es wurde die aus dem Turm kommende,

ozonhaltige Abluft geprüft und danach die Ozonmenge für 1 m³ Wasser bestimmt. In dieser Abluft befanden sich 25 % weniger Ozon als im Ozoneur erzeugten Gase, somit hatte also 1 m³ Wasser etwa 2,5 - 3 g Ozon verbraucht. Die Keimzahl von 10 000 - 40 000/ml Spreewasser vor der Ozonisierung konnte auf 5-20/ml reduziert werden. Cholera- Typhus- und Colikeime konnten mit dieser Anlage abgetötet werden.

Über die Vermischungsfrage des Luft-Ozon-Gemisches mit dem zu behandelnden Wasser wurden viele Vorschläge, wie zum Beispiel Verteilersiebe, Düsen, Wasserstrahlpumpen, gemacht (KROKE 26), die heute weitgehend der Vergangenheit angehören. Eine Anlage in Hermannstadt arbeitete mit 200 gO₃/h für 160 m³ Wasser/h. In Petersburg erreichte man nach Flockung, Filtrierung und anschließender Ozonisierung eine Reduzierung des Kaliumpermanganatverbrauches um 44 %, ebenso war das braungelb gefärbte Rohwasser entfärbt worden. Eine Verbesserung im Geschmack und Geruch des behandelten Wassers wurde gleichzeitig erreicht. Die Entkeimung des Wassers war einwandfrei erfolgt. In Paderborn kamen 80 m³ Wasser/h zur Ozonisierung, bei einem Gehalt von 3 g O₃/m³ Wasser.

1905 wurde die erste industrielle Ozonanlage in Nizza errichtet, 1912 war eine Anlage in Genua fertiggestellt, die für eine gute Keimabtötung sorgte.

1919 begann man in Leningrad das Trinkwasser mit Hilfe von Ozon-Luft-Gemischen zu entkeimen.

In der bisher besprochenen Literatur ist zwar der keimtötende Effekt von Ozon umfassend behandelt und der Erfolg auch sichergestellt worden. Es mangelt aber an genauen Angaben über Ozonzusatz -verbrauch und -überschuß. Die mehr oder weniger beliebig zugesetzten O₃-Mengen und der relativ hohe Energieverbrauch für die Ozongewinnung ließen eine Wirtschaftlichkeit dieser Anlagen nicht zu.

Das Vermischungsproblem ist heute gelöst. Der erreichte technische Leistungsstand in der Herstellung einer wirtschaftlich tragbaren Ozonmenge läßt es heute zu, daß dieses außer-

ordentlich reaktionsstarke Oxydationsmittel große Verwendungsmöglichkeiten für Desinfektion, Desodorierung, Beseitigung von Geschmack und Farbe von Flüssigkeiten bietet.

6. Die Voraussetzungen zur Entkeimung von Wasser mit Hilfe von Ozon und seine derzeitige technische Verwendung in der Wasserwirtschaft

Zuvor sei noch eine kurze tabellarische Übersicht (nach HOLLUTA 20) der neueren Entkeimungsversuche mit Ozon aufgeführt. Zum Vergleich werden Chlor und Silber aufgeführt.

Entkeimungsmittel					
Autor bzw. Autoren	Art u. Konzentration mg/l	pH	Temp. ° C	Keimzahl in 1 ml	Zeit zu 99 % Keimtötung (Minuten)
BRINGMANN	Cl ₂ 0,1	?	?	60 000	250
HOLLUTA und UNGER	Cl ₂ 0,1	7	14	2 500	41
WUHRMANN und MEYRATH	Cl ₂ 0,02	7	12	?	1,5
BRINGMANN	O ₃ 0,1	?	?	60 000	0,08
HOLLUTA und UNGER	O ₃ 0,03	7	14	2 500	<1
WUHRMANN und MEYRATH	O ₃ 0,02	7	12	?	0,2
WUHRMANN und MEYRATH	Ag 0,02	7	12	?	ca.180

Die aufgeführten Kontaktzeiten gelten für destilliertes Wasser, das frei von zehrenden Substanzen ist.

Wie bekannt, ist die oxydierende Kraft von Ozon so groß, daß es die Kohlenstoff-Doppelbindungen ungesättigter organischer Verbindungen unter Ozonid-Bildung spaltet. Auf dieser Gelegenheit beruht auch außerdem seine desodorierende Wirkung gegenüber Merkaptanen, Thioäthern und N-haltigen Heterocyklen. Diese hohe chemische Aktivität führt bei der Ent-

keimung des Wassers mit Ozon zu einer sehr starken O_3 -Zehrung, sofern das Wasser oxydationsfähige Substanzen enthält.

Um eine gute oxydierende Wirkung des Ozons auf die im Wasser gelösten Inhaltsstoffe zu erzielen, ist nach HOLLUTA (20) eine echte O_3 -Lösung anzustreben. Es muß jedoch bei der O_3 -Desinfektion stets soviel Ozon nachgeführt werden, daß nach einigen Minuten Einwirkungszeit noch freies, im Wasser enthaltenes Ozon nachzuweisen ist. Nur so ist mit einem raschen und vollständigen Keimtötungseffekt zu rechnen. BRINGMANN (6) stellte bei seinen Begasungsversuchen von Organismen des Trinkwassers fest, daß erst dann eine Letalwirkung des Ozons einsetzte, nachdem ein bestimmter, stabil verbleibender O_3 -Gehalt erreicht worden war. In natürlichen Wässern muß stets die Sättigungskonzentration von Ozon angestrebt werden, um einen bakteriziden Erfolg zu erzielen. Die Ozon-Anfangskonzentration muß hierbei so groß sein, daß eine O_3 -Sättigung des Wassers so schnell wie möglich eintritt. Der O_3 -Zusatz für die verschiedenen Wasserarten muß sich selbstverständlich jeweils nach dem Ozonverbrauch derselben richten. Hierbei sei als grober Anhaltspunkt der Kaliumpermanganatverbrauch angegeben. BRINGMANN (5) bemerkte bei seinen Versuchen, daß höhere Keimzahlen eine schnellere Zersetzungsgeschwindigkeit des Ozons verursachen.

BERGER (3) und KNAPP (25) stellten bei der Überprüfung von Ozon-Anlagen fest, daß bei zunehmender Verschmutzung des Wassers die Zersetzungsgeschwindigkeit von O_3 zunimmt.

Die bakterizide Wirkung von Ozon ist, wie schon erwähnt, pH-unabhängig, doch benötigen alkalische Wasserarten zu ihrer Desinfektion einen höheren O_3 -Zusatz, da hier der Ozonzerfall beschleunigt wird (STUMM n. HOLLUTA 20). Nach HOLLUTA (20) greifen Entkeimungs- und Desinfektionsmittel in den normalen Stoffwechsel der Bakterienzellen ein. Sie stören den regelmäßigen Ablauf der Lebensprozesse durch Behinderung und Blockierung des enzymatischen Regelsystems. Sie führen - in geringer Menge in die Bakterienzelle eingedrungen - zu deren Tode. Der wirksame Stoff eines Desinfektionsmittels muß also die Zellmembran passieren, um wirksam zu werden. Da die Zell-

wand aber eine freie elektrische Eigenladung besitzt, wird dies meistens verhindert.

Chlor bzw. die undissoziierte unterchlorige Säure vermag relativ schnell in die im Wasser befindliche Bakterienzelle einzudringen, das negativ geladene Hypochlorit-Ion hingegen nur sehr schwer. Dies also ist der Hauptgrund, warum das Chlor in alkalischer Lösung, in welcher die negativen Ladungen der Zellmembran überwiegen, bedeutend langsamer keimtötend wirkt, als in neutraler oder saurer Reaktion des Mediums. Die Keimtötungsgeschwindigkeit ist also nicht nur von der Konzentration des Desinfektionsmittels, der Temperatur des Mediums und der Keimzahl pro ml abhängig, sondern auch vom pH-Wert der Flüssigkeit.

Eine echte Lösung von Ozon in Wasser ist begrenzt. Sie folgt dem Gesetz nach Henry-Dalton für die Löslichkeit idealer Gase in Wasser.

Eine zahlenmäßige Auswertung des Gesetzes erfolgt im allgemeinen durch Angabe des Bunsenschen Absorptionskoeffizienten α . Gebräuchlich ist die Angabe der Löslichkeit von Ozon in Wasser durch den Teilungskoeffizienten T_k .

$$T_k = \frac{\text{mg O}_3/\text{l Wasser bei 760 mm Hg und der Temperatur } t^{\circ}\text{C}}{\text{mg O}_3/\text{l Luft bei 760 mm Hg und der Temperatur } t^{\circ}\text{C}}$$

Nach AXT (1) ergibt sich ein Verteilungsfaktor von $T_k = 0,366$ bei $+15^{\circ}\text{C}$. Eine O_3 -Konzentration in Wasser ist somit beschränkt. Bei der allgemein üblichen Verwendung von Ausgangsgas mit $10 \text{ g O}_3/\text{m}^3$ ist zum Beispiel eine Konzentration von $3,66 \text{ g O}_3/\text{m}^3$ unter normalen Bedingungen nicht zu überschreiten.

Zur Entkeimung von wenig belastetem Grundwasser sind aber sehr geringe Mengen an freiem Ozon erforderlich. Es genügt hier eine Konzentration von $0,3 - 0,5 \text{ mg O}_3/\text{l}$ bei einer Kontaktzeit von 5-10 Minuten, um nach dieser Zeit einen Restgehalt von $0,15 - 0,3 \text{ mg O}_3/\text{l}$ zu erhalten (HOLLUTA 20). BERGER (3) berichtet, daß bei einer O_3 -Anlage der Wasserversorgung Bern, zur Entkeimung von schnellfiltriertem Quellwasser, eine mittlere Dosis von $0,4 - 0,5 \text{ mg O}_3/\text{l}$ Wasser zugesetzt werden muß,

um einen O_3 -Überschuß von 0,2 mg O_3 /l Wasser zu garantieren. Bei der Beseitigung von Geruchs- und Geschmacksstoffen benötigt man nach Angabe von AXT (1) 5 g O_3 /m³ Wasser. Im Schlachthof Basel wird die Ozonisierung des Abwassers (20 m³/h) mit einer Konzentration von 1,5 g O_3 /m³ Abwasser durchgeführt; dabei tritt eine sehr gute Desodorierung ein. Im Annahmeraum der Tierkörperverwertungsanlage werden 2,14 g O_3 /m³ Abwasser als zweckmäßig erkannt (persönliche Mitteilung des Schlachthofdirektors). Zur Entfärbung von Gewässern wird im allgemeinen ein Zusatz von 2,0 - 2,6 g O_3 /m³ anzuwenden sein (AXT 1). SCHENK (46) berichtet, daß im Wasserwerk Düsseldorf das Rohabwasser mit maximal 1,5 g O_3 /m³ behandelt wird und dann anschließend einen Doppelschicht-Aktivkohlefilter passiert. Während Polio-Epidemiezeiten schlagen HETTICHE und SCHULZ-EHLBECK (18) eine Ozonisierung des Wassers mit einem Restwert von 0,15 mg/l Wasser vor.

Eine direkte Ozonisierung, d.h. Einleitung des Ozon-Gasgemisches zum Beispiel durch Rohrleitungen, die in die Flüssigkeit hineinreichen, wird heute nicht mehr vorgenommen. Bei dieser Methode erfolgt zum einen keine innige Verbindung mit dem Wasser und damit wird wenig Ozon echt gelöst, zum anderen entweichen hierbei zuviel O_3 -Gasmengen, eine optimale Nutzung des produzierten Ozons ist somit nicht gegeben.

Bei der Verwendung von sogenannten "Injektoren" wird ein Gemisch von gesättigtem Wasser und ozonhaltigem Gas in den Rohwasserzulauf eines Behälters gebracht. Je nach Verweildauer des Gases in der zu behandelnden Wassermenge, wird das noch Restozon enthaltende, überschüssige Gasgemisch abgeführt oder mit einer vorbereiteten Ozon-Wasser-Emulsion auch direkt in die Rohwasserzuleitung gegeben. Ein Mischbehälter mit automatischer Entlüftung wird nachzuschalten sein. Durch dieses Verfahren erfolgt eine gute Durchmischung und O_3 -Aufnahme des Wassers. Die Beschickung mit O_3 -Gas muß jedoch in einem geschlossenen System geschehen, welches unter Druck steht. Um eine höhere Ozonlöslichkeit im Wasser zu erhalten, verwendet man zum Beispiel bei der Beseitigung von Geruchs- und Geschmacksstoffen durch Ozon das indirekte Verfahren (AXT 1).

Zur Verwendung als Rohgas wird hierbei Sauerstoff herangezogen. Die O_3 -Lösung wird ebenfalls in einem geschlossenen System vorgenommen. Es können somit weder Sauerstoff noch Ozon entweichen, große Gasverluste werden dadurch vermieden. Das O_2 - O_3 -Gasgemisch wird bei Überdruck verdichtet. Ein zusätzlicher Energiebedarf für Pumpenleistung fällt dadurch weg. Die unter Druck entstandene und deshalb auch starke O_3 -Lösung in Wasser ist aber gleichzeitig mit O_2 angereichert. Es muß hierbei Sorge getragen werden, daß das Verhältnis gelöstes O_3 : gelöstem O_2 möglichst groß bleibt. Mit Hilfe von Gegenstrom-Absorptionskolonnen wird dieses bewerkstelligt und das Gasgemisch in Berührung mit dem Wasser gebracht. Die noch Rest- O_2 enthaltende Gasmenge geht nach Trocknung und Entspannung wieder in den Ozoneur zurück, nachdem vorher noch O_2 zugesetzt worden ist.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methode

1. Eichung des Ozoneurs

Als Ozonquelle wurde ein Hermann-Labor-Ozoneur Lo-50-1 (der Firma Gebr. Hermann, Köln-Ehrenfeld) verwendet. Der Ozoneur wurde mit einer Eingangsspannung von 220 V Wechselstrom betrieben und mit reinem Sauerstoff aus einer Druckflasche bei Zimmertemperatur versorgt. Der Hochspannungstransformator transformierte die Eingangsspannung auf 15 000 V, welche die Entladungsröhre speisten. Die durchströmende O_2 -Gasmenge betrug 20 l/h, der Gasdruck 0,6 atü, der mit Hilfe eines Reduzierventils eingestellt wurde. Die Kühlung fand durch Anschluß an die Wasserleitung statt, der Wasserdurchlauf betrug 30-35 l/h. Nach etwa 10-minütiger Laufzeit des Gerätes bei obengenannter Einstellung wurde die Ozonmenge ermittelt. Der Austrittsschlauch, welcher das Ozon-Sauerstoffgemisch beinhaltete, war an zwei hintereinander geschalteten Flaschen angeschlossen. Jede der Flaschen, die etwa 300 ml faßten, enthielt 200 ml einer 2%igen Kaliumjodid-Lösung. Mit Hilfe eines Silikonstopfens, der zweimal der Länge nach durchbohrt war, wurde jede Flasche verschlossen. Im einen Bohrloch befand sich ein 3 mm lumiges Glasröhrchen, welches in die Flasche hineinreichte und etwa 5 mm über dem inneren Boden endete, während in der anderen Öffnung ein Röhrchen stak, das nur wenige Millimeter in die Flasche reichte. Der Verschuß zwischen den Röhrchen und dem Stopfen war luftdicht. Beide Röhrchen überragten um etwa 15 mm das äußere Ende des Stopfens. Das lange Röhrchen diente als Zufuhr des Ozon-Sauerstoffgemisches in die Lösung, während das kurze den Abzug des Gases aus der Lösung ermöglichte.

Während der Durchleitung des Ozon-Sauerstoff-Gemisches fand in der KJ-Lösung eine Absorption von Ozon statt, wobei Jod freigesetzt wurde. Die anfangs farblose und durchsichtige 2%ige KJ-Lösung färbte sich bei der O_3 -Durchströmung gelb bis braun. Nach beendeter Ozonisierung wurde jeder Flaschen-

inhalt getrennt in einen Weithals-Erlenmeyerkolben übergeführt, mit 10 ml einer 2 n Salzsäure angesäuert und mit 1/10 n Natriumthiosulfatlösung ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) bis zur Hellgelbfärbung titriert, 1 ml einer 1%igen, frisch bereiteten Stärkelösung zugegeben und erneut titriert bis zum Umschlag von hellblau nach farblos. Die verbrauchte Menge an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml wurde nun mit 2,4 multipliziert. 1 ml einer 1/10 n Natriumthiosulfatlösung entspricht nämlich 2,4 mg Ozon.

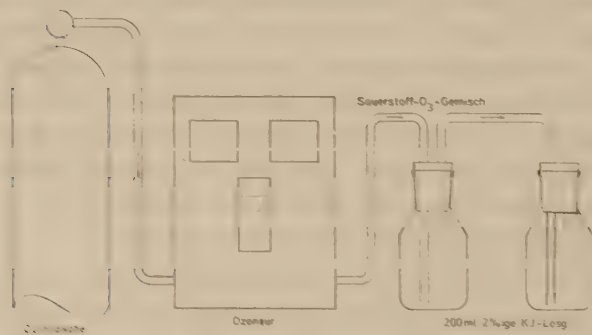
Eichergebnisse: (220 V, 0,6 atü, 20 l O_2/h , Zimmertemperatur)

Ozonisierungszeit min.	Verbrauch an 1/10 n Na-Thiosulfatlösung mg	x 2,4 = O_3 -Menge mg
1	8,3	19,9
2	16,6	39,8
5	41,5	99,6
		153,3

153,3 : 8 = 19,1. Es wurden also abgerundet 19 mg Ozon pro Minute erzeugt. Rechnerisch ergab sich demnach eine erzeugte Ozonmenge von 1 140 mg/h.

Skizze:

Resultatbestimmung für O_3 -Bestimmung



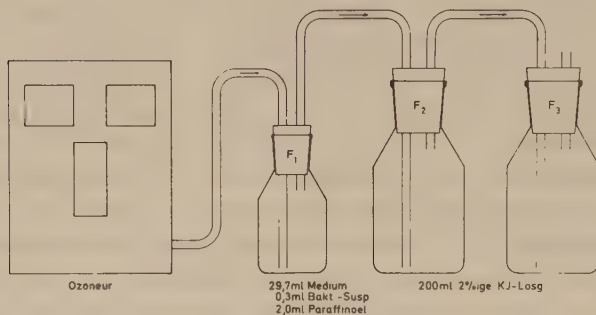
2. Versuchsanordnung bei Ozonisierung der Bakteriensuspensionen

Der Ozoneur arbeitete bei sämtlichen Versuchen mit den gleichen, zuvor beschriebenen Einstellungen. Der Austrittsschlauch (PVC, Innen $\varnothing$ 5 mm) des Ozoneurs, welcher das Ozon-Sauerstoffgemisch enthielt, wurde an ein etwa 200 ml fassendes, steriles Glasfläschchen (F_1 , Skizze II) angeschlossen. Dies fand folgendermaßen statt: ein Silikonstopfen, der das Fläschchen verschloß, wurde zweimal der Länge nach mit einem Durchmesser von 5 mm durchbohrt. In die eine Öffnung kam ein Glasrohr (Außen $\varnothing$ 5 mm, Innen $\varnothing$ 3 mm), welches bis 3 mm über den inneren Boden der Flasche reichte, in die andere wurde ein ebenso starkes, aber nicht in das Lumen der Flasche ragendes Röhrchen verbracht.

Während das eine zur Einleitung des Ozon-Sauerstoffgemisches in die Suspension diente, fungierte das andere als Abzug des Gases aus der Flasche. Das Abzugsröhrchen der Flasche F_1 (s. Skizze II) wurde mit einem PVC-Schlauch an das Eintrittsrohr einer zweiten Flasche (F_2 , s. Skizze II) angeschlossen. Eine dritte Flasche (F_3 , s. Skizze II) wurde dann schließlich mit der Flasche F_2 verbunden. Die Flaschen F_2 und F_3 (Skizze II), deren Inhalt etwa 300 ml betrug, waren mit 200 ml einer 2%igen KJ-Lösung gefüllt. In der Flasche F_1 (Skizze II) befand sich die zu begasende Bakteriensuspension. Hierzu wurden jeweils 29,7 ml Medium und 0,3 ml der betreffenden Bakterienaufschwemmung eingebracht. Um bei der O_3 -Durchleitung eine allzu große Schaumbildung des Mediums zu verhindern, wurden jeweils 2 ml Paraffinoel auf den Flüssigkeitsspiegel gegeben.

Skizze II

Skizzierung der Versuchsanordnung bei Ozonisierung der Bakteriensuspensionen



3. Herstellung der Standard-Bakteriensuspensionen und deren Prüfung

a) Salmonellen

Als Ausgangsmaterial wurden folgende Spezies der Salmonella-Gruppe verwendet:

1. *S. enteritidis*
2. *S. typhimurium*
3. *S. paratyphi B*
4. *S. cairo*
5. *S. manchester*
6. *S. anatum*

Die Salmonellen stammten aus der Institutssammlung. Sie wurden wöchentlich auf frischen Endo-Agar überimpft und bei +5°C aufbewahrt. Von diesen Platten wurden jeweils mit der Öse Kolonien abgenommen und pro Stamm 30 ml Tryptic soy broth (20 mg Protein/l, Difco Laboratories) beimpft. Nach 24-stündiger Bebrütung bei +37°C waren sämtliche Nährmedien stark getrübt. Nach anschließendem Zentrifugieren der 6 Salmonellenproben

bei 6 000 U/min 30 Minuten lang wurde jeder Stamm viermal mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und zentrifugiert. Zuletzt wurde der Bodensatz mit 30 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Diese Keimaufschwemmungen kamen dann sofort in einen Kühlschrank (+5°C). Sie stellten das Bakterienmaterial für die Versuche dar. Von den begasten Aufschwemmungen wurde jeweils 1 ml pro Stamm in 30 ml Na-tetrathionat nach KAUFFMANN (22) mit Malachitgrünzusatz nach BRUNNER (7a) abgeimpft.

Nach 16-stündiger Bebrütung bei +37°C wurde 1 ml aus jeder Anreicherung entnommen, auf jeweils 5 BPLA-Platten (zit. n. HALIMANN 15) je 2 Tropfen verbracht, mit dem Spatel ausgestrichen und 24 Stunden lang bei +37°C bebrütet. Von jeder bewachsenen Platte wurden mit der 3 mm Öse Kolonien abgenommen und damit je 5 Schrägagarröhrchen nach KLIGLER (24) beimpft. Nach abermals 24-stündiger Bebrütung bei +37°C erfolgte pro Probe eine Objektträgeragglutination mit O- und H-Antiserien (Behringwerke). Keimzählungen nach dem Kochschen Plattenverfahren ergaben eine Keimdichte von 10^{10} - 10^{12} /ml. Bei jedem Begasungsversuch wurde von den Keimaufschwemmungen in steriler physiologischer NaCl-Lösung jeweils 0,3 ml verwendet.

b) Bacillus anthracis

Der für die Versuche verwendete Stamm von Bac. anthracis stammt aus der Institutssammlung und wurde über eine subcutan infizierte Maus passagiert. Dies geschah durch Injektion von 0,1 ml reiner, aufgeschwemmter Milzbrandkultur vom Schrägagar. Die Maus ging an Septikaemie ein. Es wurde ihr Herzblut entnommen und auf Blutagarplatten ausgestrichen, auf Schrägagar überimpft und dieser dann mit steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Anschließend wurde je 1 ml auf insgesamt 9 Kolle-Schalen mit Agar-Agar verbracht, dazu kamen etwa 100 kleine Glasperlen pro Schale. Die beimpften Kolle-Schalen wurden 9 Tage lang bei +37°C bebrütet und danach jede Schale mit 20 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Diese Abschwemmungen

inhalt getrennt in einen Weithals-Erlenmeyerkolben übergeführt, mit 10 ml einer 2 n Salzsäure angesäuert und mit 1/10 n Natriumthiosulfatlösung ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) bis zur Hellgelbfärbung titriert, 1 ml einer 1%igen, frisch bereiteten Stärkelösung zugegeben und erneut titriert bis zum Umschlag von hellblau nach farblos. Die verbrauchte Menge an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml wurde nun mit 2,4 multipliziert. 1 ml einer 1/10 n Natriumthiosulfatlösung entspricht nämlich 2,4 mg Ozon.

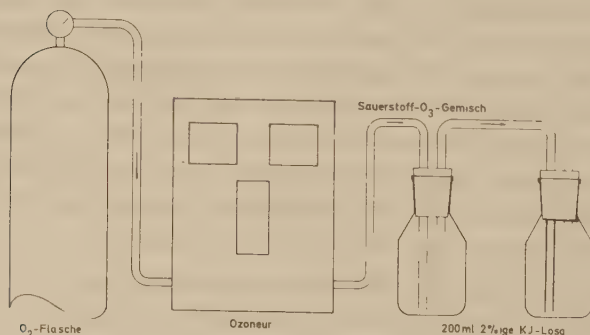
Eichergebnisse: (220 V, 0,6 atü, 20 l O_2 /h, Zimmertemperatur)

Ozonisierungszeit min.	Verbrauch an 1/10 n Na-Thiosulfatlösung mg	x 2,4 = O_3 -Menge mg
1	8,3	19,9
2	16,6	39,8
5	41,5	99,6
		153,3

$153,3 : 8 = 19,1$. Es wurden also abgerundet 19 mg Ozon pro Minute erzeugt. Rechnerisch ergab sich demnach eine erzeugte Ozonmenge von 1 140 mg/h.

Skizze I

Versuchsordnung zur O_3 -Bestimmung



2. Versuchsanordnung bei Ozonisierung der Bakteriensuspensionen

Der Ozoneur arbeitete bei sämtlichen Versuchen mit den gleichen, zuvor beschriebenen Einstellungen. Der Austrittsschlauch (PVC, Innen $\varnothing$ 5 mm) des Ozoneurs, welcher das Ozon-Sauerstoffgemisch enthielt, wurde an ein etwa 200 ml fassendes, steriles Glasfläschchen (F_1 , Skizze II) angeschlossen. Dies fand folgendermaßen statt: ein Silikonstopfen, der das Fläschchen verschloß, wurde zweimal der Länge nach mit einem Durchmesser von 5 mm durchbohrt. In die eine Öffnung kam ein Glasrohr (Außen $\varnothing$ 5 mm, Innen $\varnothing$ 3 mm), welches bis 3 mm über den inneren Boden der Flasche reichte, in die andere wurde ein ebenso starkes, aber nicht in das Lumen der Flasche ragendes Röhrchen verbracht.

Während das eine zur Einleitung des Ozon-Sauerstoffgemisches in die Suspension diente, fungierte das andere als Abzug des Gases aus der Flasche. Das Abzugsröhrchen der Flasche F_1 (s. Skizze II) wurde mit einem PVC-Schlauch an das Eintrittsrohr einer zweiten Flasche (F_2 , s. Skizze II) angeschlossen. Eine dritte Flasche (F_3 , s. Skizze II) wurde dann schließlich mit der Flasche F_2 verbunden. Die Flaschen F_2 und F_3 (Skizze II), deren Inhalt etwa 300 ml betrug, waren mit 200 ml einer 2%igen KJ-Lösung gefüllt. In der Flasche F_1 (Skizze II) befand sich die zu begasende Bakteriensuspension. Hierzu wurden jeweils 29,7 ml Medium und 0,3 ml der betreffenden Bakterienaufschwemmung eingebracht. Um bei der O_3 -Durchleitung eine allzu große Schaumbildung des Mediums zu verhindern, wurden jeweils 2 ml Paraffinoel auf den Flüssigkeitsspiegel gegeben.

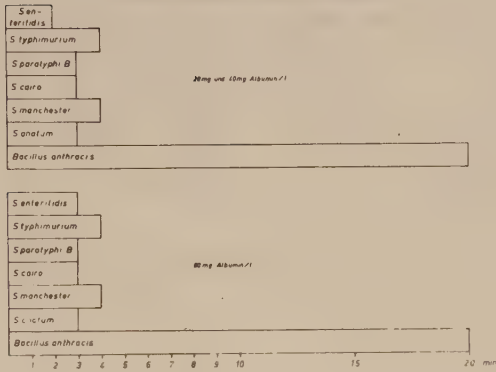
Tabelle 1

Begasungszeit min.	2	3	4	5	6	7	Kontrolle
<u>20 mg Rd.-Albumin/l</u>							
S. enteritidis	+	-	-	-	-		+
S. typhimurium	+	+	+	-	-		+
S. paratyphi B	+	+	-	-	-		+
S. cairo	+	+	-	-	-		+
S. manchester	+	+	+	-	-		+
S. anatum	+	+	-	-	-		+
<u>40 mg Rd.-Albumin/l</u>							
S. enteritidis	+	-	-	-	-		+
S. typhimurium	+	+	+	-	-		+
S. paratyphi B	+	+	-	-	-		+
S. cairo	+	+	-	-	-		+
S. manchester	+	+	+	-	-		+
S. anatum	+	+	-	-	-		+
<u>80 mg Rd.-Albumin/l</u>							
S. enteritidis	+	+	-	-	-		+
S. typhimurium	+	+	+	-	-		+
S. paratyphi B	+	+	-	-	-		+
S. cairo	+	+	-	-	-		+
S. manchester	+	+	+	-	-		+
S. anatum	+	+	-	-	-		+
<u>160 mg Rd.-Albumin/l</u>							
S. enteritidis	+	+	-	-	-		+
S. typhimurium	+	+	+	-	-		+
S. paratyphi B	+	+	+	-	-		+
S. cairo	+	+	-	-	-		+
S. manchester	+	+	+	-	-		+
S. anatum	+	+	-	-	-		+
<u>320 mg Rd.-Albumin/l</u>							
S. enteritidis	+	+	-	-	-	-	+
S. typhimurium	+	+	+	+	-	-	+
S. paratyphi B	+	+	+	-	-	-	+
S. cairo	+	+	-	-	-	-	+
S. manchester	+	+	+	+	-	-	+
S. anatum	+	+	-	-	-	-	+

+ = noch anzüchtbar

- = nicht mehr anzüchtbar

Überlebenszeiten bei Ozonisierung von Salmonellen und Milzbrandbazillen-Sporen
in künstlichen eiweißhaltigen Medien bei Zimmertemperatur



Überlebenszeiten bei Ozonisierung von Salmonellen und Milzbrandbazillen-Sporen
in künstlichen eiweißhaltigen Medien bei Zimmertemperatur

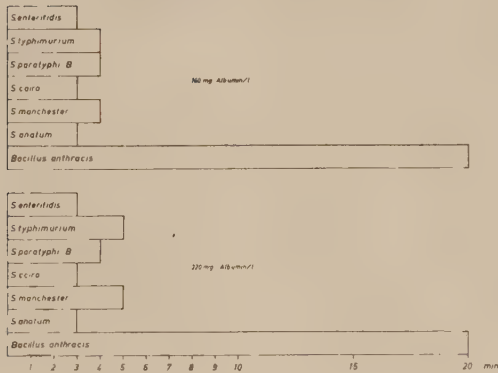


Abb. 1 und 1a: Graphische Darstellung zu Tab. 1 und 1a

Tabelle 2: Salmonellen

Ozoni- sie- rungs- zeit t	Verbrauch an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml bei Ti- tration der Flaschen $\text{F}_2 + \text{F}_3$ (s. Skizze II) $\times 2,4 = \text{O}_3$ -Menge	Gesamt- O_3 - Erzeugung und Durch- leitung in t	Titration der Flasche F_1 : (s. Skizze II) Verbrauch an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml $\times 2,4 =$ O_3 -Gehalt	Differenz: $(3) - [(2) + (4)]$ $= \text{O}_3$ -Zer- fall bzw. -verbrauch
------------------------------------	--	--	---	--

min.	mg	mg	mg	mg
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)

20 mg Rd.-Albumin/l

1	5,4=12,96	19	0,6=1,44	4,60
2	10,9=26,16	38	0,6=1,44	10,40
3	15,6=37,44	57	0,7=1,68	17,88
4	20,6=49,44	76	0,7=1,68	24,88
5	25,8=61,92	95	0,7=1,68	31,40
6	30,2=72,48	114	0,7=1,68	39,84

320 mg Rd.-Albumin/l

1	4,7=11,28	19	0,6=1,44	6,28
2	10,0=24,00	38	0,6=1,44	12,56
3	14,5=34,80	57	0,6=1,44	20,76
4	19,7=47,28	76	0,6=1,44	27,28
5	24,2=58,08	95	0,6=1,44	35,48
6	28,3=67,92	114	0,6=1,44	44,64
7	32,0=76,80	133	0,6=1,44	54,76

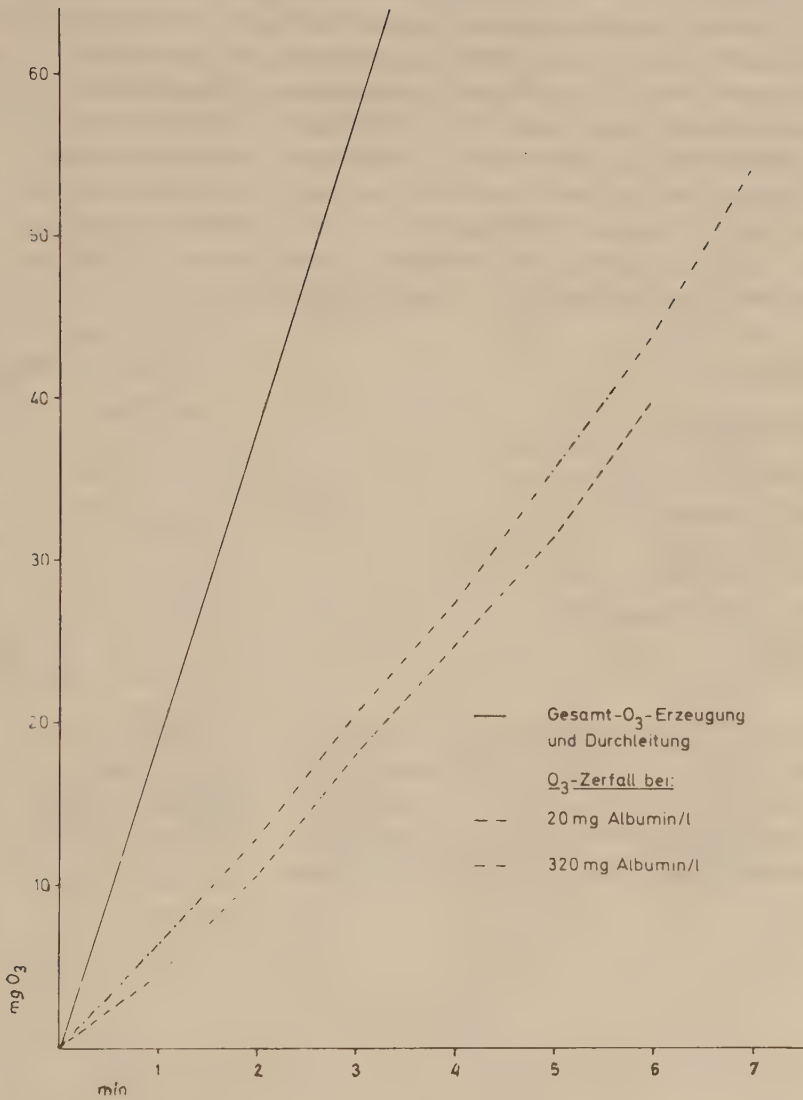


Abb. 2: Graphische Darstellung zu Tabelle 2

b) Milzbrandbazillen

Bei Ozonisierungsversuchen mit Milzbrandsporen wurden ebenso 29,7 ml der sterilen Albuminlösungen und 0,3 ml der Sporensuspension ($2 \times 10^7/\text{ml}$) verwendet. Ein Zusatz von 2,0 ml Paraffinoel verhinderte eine zu große Schaumbildung bei der O_3 -Durchleitung. Nach beendeter Ozonisierung wurden mit einer 5 ml-Pipette 2 ml der begasten Flüssigkeit entnommen, jeweils 2 Tropfen auf je 5 Agar-Agar-Platten und je 5 Blutagarplatten überimpft, diese mit der Öse ausgestrichen und die Nährböden bei $+37^\circ\text{C}$ 24 Stunden lang bebrütet. Danach wurden sie auf das typische Wachstum von *Bac. anthracis* überprüft.

Tabelle 1 a

Begasungszeit min.	5	10	15	20	25	30	35
<u>20 mg Rd.-Albumin/l</u>							
<i>Bacillus anthracis</i>	+	+	+	+	-	-	-
<u>40, 80, 160 und</u>							
<u>320 mg Rd.-Albumin/l</u>							
<i>Bacillus anthracis</i>	+	+	+	+	-	-	-

Vor jedem Ozonisierungsversuch erfolgte eine Überimpfung von je 2 Tropfen der Sporenverdünnung ($2 \times 10^5/\text{ml}$) auf jeweils 2 Agar-Agar-Platten und 2 Blutagarplatten. Jede Kontrollplatte zeigte nach 24-stündiger Bebrütung bei $+37^\circ\text{C}$ das charakteristische Wachstum von *Bacillus anthracis*.

Tabelle 3: Milzbrandsporen

Ozoni- sie- rungs- zeit t	Verbrauch an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml bei Ti- tration der Flaschen F_2+F_3 (s. Skizze II) $\times 2,4=\text{O}_3$ -Menge	Gesamt- O_3 - Erzeugung und Durch- leitung in t	Titration der Flasche F_1 : (s. Skizze II) Verbrauch an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml $\times 2,4 =$ O_3 -Gehalt	Differenz: (3) - [(2) + (4)] = O_3 -Zer- fall bzw. -verbrauch
------------------------------------	--	--	---	--

min.	mg	mg	mg	mg
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)

20 mg Rd.-Albumin/l

5	24,9=59,76	95	0,7=1,68	33,56
10	45,8=109,92	190	0,7=1,68	78,40
15	69,6=167,04	285	0,7=1,68	116,28
20	84,5=202,80	380	0,7=1,68	175,52
25	87,1=209,04	475	0,7=1,68	264,28
30	89,9=215,76	570	0,7=1,68	352,56
35	92,0=220,80	665	0,7=1,68	442,52

320 mg Rd.-Albumin/l

5	23,6=56,64	95	0,6=1,44	36,92
10	44,7=107,28	190	0,6=1,44	81,28
15	64,8=155,52	285	0,6=1,44	128,04
20	72,6=174,24	380	0,6=1,44	204,32
25	76,2=182,88	475	0,6=1,44	290,68
30	78,8=189,12	570	0,6=1,44	379,44
35	83,3=199,92	665	0,6=1,44	463,64

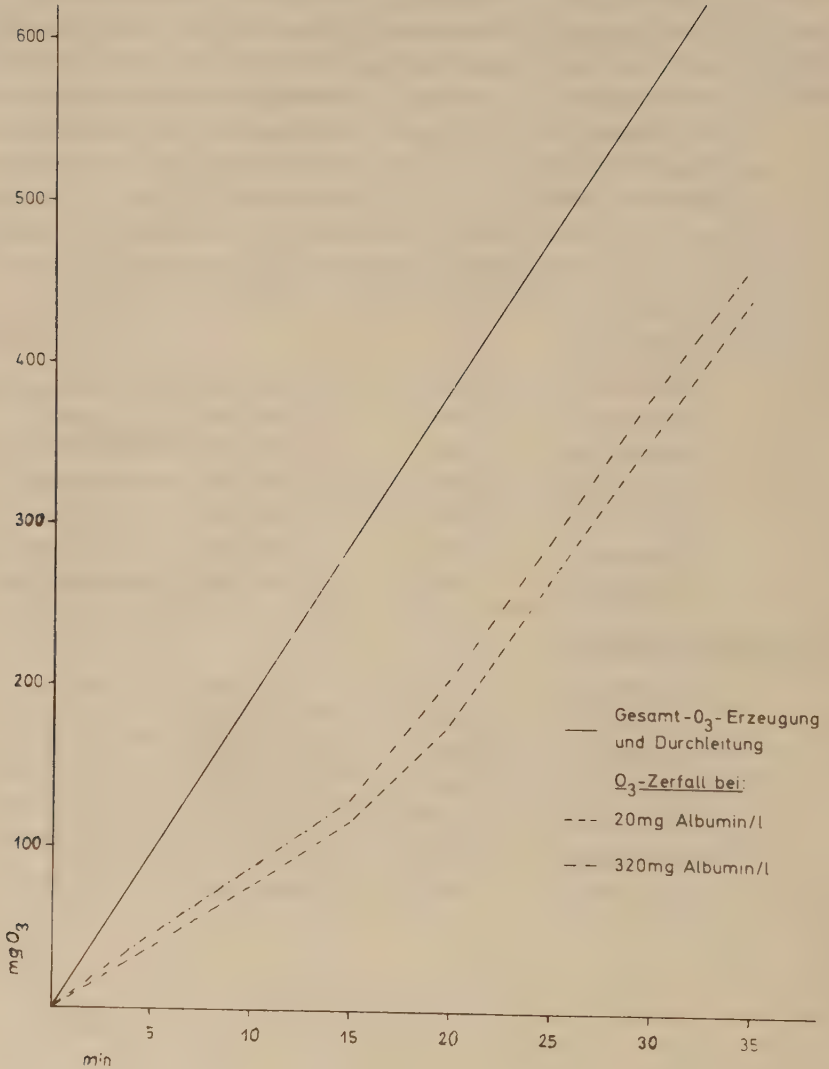


Abb. 3: Graphische Darstellung zu Tabelle 3

2. Verwendung von natürlichen eiweißhaltigen Lösungen und Bestimmung des BSB₅ nach den Deutschen Einheitsverfahren zur Wasseruntersuchung (9)

Es wurden hierzu folgende Medien benutzt:

- a) Mechanisch und biologisch gereinigtes Abwasser.
- b) Häusliches Abwasser, entnommen nach Passieren des Sandfanges.
- c) Schlachthofabwasser aus Sammelkanalisation.

Um eine Aussage über den Verschmutzungsgrad dieser Abwässer zu erhalten, wurde die Bestimmung des biochemischen Sauerstoffbedarfs (BSB) durchgeführt. Unter dem BSB versteht man die Menge an Sauerstoff, die von Mikroorganismen verbraucht wird, um die im Wasser enthaltenen organischen Stoffe bei +20°C oxydativ abzubauen. Der alleinige Bedarf an Sauerstoff zur chemischen Oxydation von Inhaltsstoffen wird als chemischer Sauerstoffbedarf (ChSB) bezeichnet. Diese oxydativen Vorgänge sind im allgemeinen nach 2 Stunden beendet. Die Grösse des biochemischen Sauerstoffbedarfs ist abhängig von:

1. Art und Zahl der im Wasser vorhandenen Mikroorganismen.
2. Angebot an Sauerstoff.
3. Angebot an Nährsubstanzen für die Bakterien.
4. Art des biochemischen Abbaus der Substanzen.
5. Zehrungsdauer (Einwirkungszeit der Bakterien auf die organischen Inhaltsstoffe).
6. Temperatur und Lichteinwirkung.
7. Beeinträchtigung des biologischen Vorganges durch Inhibitoren und toxische Produkte.

Bei der hier durchgeführten Bestimmung wurde eine Zehrungsdauer von 5 Tagen gewählt (BSB₅). Sie wurde ausgeführt durch Ermittlung des Sauerstoffgehaltes unmittelbar nach dem Ansetzen der Verdünnung und nach einer 5-tägigen Zehrungsdauer der verdünnten Proben. Die Differenz beider Werte ergab unter Berücksichtigung des Verdünnungsgrades den BSB₅.

Die absetzbaren Stoffe der Abwässer blieben unberücksichtigt, die BSB-Bestimmung wurde jeweils im sedimentierten Abwasser durchgeführt.

Es wurden Schüttelflaschen, Inhalt 125 - 143 ml, mit paarweiser Numerierung von Flasche und Stopfen verwendet. Die Herstellung des Verdünnungswassers erfolgte mit Hilfe von Puffer- und Nährsalzlösungen.

Lösung 1: 8,5 g KH_2PO_4 , 21,75 g K_2HPO_4 , 33,4 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ und 1,7 g NH_4Cl wurden in 500 ml destilliertem Wasser gelöst, anschließend auf 1 l aufgefüllt.

Lösung 2: 22,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ wurden in destilliertem Wasser zu 1 l gelöst.

Lösung 3: 27,5 g CaCl_2 wurden in destilliertem Wasser zu 1 l gelöst.

Lösung 4: 0,25 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ wurden in destilliertem Wasser zu 1 l gelöst.

Von jeder der vier Lösungen kam je 1 ml zu einem Liter destilliertem Wasser. Das so hergestellte Verdünnungswasser wurde 48 Stunden lang mit reinem Sauerstoff belüftet und im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Die Herstellung einer Mangan(II)-chlorid-Lösung geschah durch Auflösen von 800 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ in 1 l destilliertem Wasser. Herstellung des Fällungsreagenz: 360 g NaOH (nitritfrei), 200 g KJ (jodatfrei) und 5 g NaN_3 (Natriumazid) wurden mit destilliertem Wasser zu 1 l gelöst und durch Glaswolle filtriert.

Bereitung der Zinkjodid-Stärkelösung: 4 g Stärke wurden mit wenig destilliertem Wasser verrieben, in eine siedende Lösung von 20 g Zinkchlorid in 100 ml Wasser verbracht, unter Ergänzung des verdampfenden Wassers klargekocht und mit destilliertem Wasser verdünnt. Sodann erfolgte ein Zusatz von 2 g Zinkjodid. Anschließend wurde bis auf 1 l aufgefüllt und die Lösung filtriert. Die Aufbewahrung der Zinkjodid-Stärkelösung fand in einer braunen Flasche statt.

Von jeder Abwasserprobe (mit und ohne Verdünnung) wurden nun 3 Schüttelflaschen (F_1 , F_2 , F_3) blasenfrei eingefüllt. Zu F_1 kamen sofort je 0,5 ml Mangan(II)-chlorid-Lösung und Fällungsreagenz hinzu. Nach sofortigem Verschluß der drei Fla-

schen wurde die mit den Reagenzien versetzte Flasche F_1 mehrmals umgeschüttelt. Die Flaschen F_2 und F_3 kamen hingegen gleich für fünf Tage in einen Thermostaten bei $+20^{\circ}\text{C}$. Nach beendeter 5-tägiger Zehrungsdauer wurden F_2 und F_3 mit je 0,5 ml Mangan(II)-chlorid-Lösung und Fällungsreagenz versetzt. Der Inhalt dieser Flaschen (F_1 , F_2 , F_3) wurde nach Zusatz der Reagenzien wie folgt weiterbehandelt:

Der Niederschlag wurde mit Hilfe von 2 ml Phosphorsäure ($d=1,70$) gelöst, das freigesetzte Jod mit 1/100 n Natriumthiosulfatlösung titriert. Zur hellgelb gefärbten Lösung erfolgte gegen Ende der Titration ein Zusatz von 1 ml Zinkjodid-Stärkelösung. Die Titration wurde fortgesetzt bis zur Entfärbung der Lösung.

Der BSB des Verdünnungswassers wurde ebenso ermittelt und bei der Berechnung berücksichtigt.

Berechnung des BSB:

1 ml einer 1/100 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ entspricht 0,08 g O_2 . Der Sauerstoffgehalt der einzelnen Proben ergibt sich nach folgender Formel:

$$\frac{a \times 0,08 \times 1\,000}{b-c} = G \quad (\text{I})$$

a = Verbrauch an 1/100 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml

b = Volumen der Schüttelflasche in ml

c = Gesamtvolumen der zugefügten Reagenzien (Mangan(II)-chlorid-Lösung und Fällungsreagenz)

G = Gehalt an Sauerstoff(O_2) in mg/l

Die Sauerstoffzehrung in den Verdünnungen errechnet sich aus:

$$G_1 - \frac{G_2 - G_3}{2} = Z \quad (\text{II})$$

G_1 = Sauerstoffgehalt der Probe F_1 in mg/l

G_2 = Sauerstoffgehalt der Probe F_2 in mg/l

G_3 = Sauerstoffgehalt der Probe F_3 in mg/l

Z = Sauerstoffzehrung in mg O_2 /l

Die Berechnung des BSB erfolgt nach der Formel:

$$\frac{d}{e} (Z_p - Z_v) + Z_v = \text{BSB}_t \quad (\text{III})$$

d = Volumen des zur Herstellung der Verdünnung benutzten Meßkolbens in ml

e = verwendetes Volumen der unverdünnten Probe in der Verdünnung in ml

Z_p = Sauerstoffzehrung der Verdünnung in t Tagen in mgO_2/l

Z_v = Sauerstoffzehrung des Verdünnungswassers in t Tagen in mgO_2/l

BSB_t = Biochemischer Sauerstoffbedarf des Wassers in t Tagen in mgO_2/l

Die Bestimmung des BSB mit Verdünnung wurde hier bei Häuslichem Abwasser und bei Schlachthof-Abwasser durchgeführt. Bei der Bestimmung des BSB von mechanisch und biologisch gereinigtem Abwasser und des Verdünnungswassers geschah es hingegen ohne Verdünnung.

Hierbei wird der BSB nach folgender Formel errechnet:

$$G_1 - \frac{G_2 - G_3}{2} = \text{BSB}_t \quad (\text{IIa})$$

Folgende Werte wurden ermittelt:

1. BSB_5 des Verdünnungswassers = 1,7 mg/l
2. BSB_5 des mechanisch und biologisch gereinigten Abwassers = 4 mg/l
3. BSB_5 des Häuslichen Abwassers = 124 mg/l
4. BSB_5 des Schlachthofabwassers = 468 mg/l

3. Ozonisierungsversuche mit Salmonellen in Abwässern

Es wurden hierbei dieselben Bedingungen und die gleiche Versuchsanordnung gewählt wie sie in III/2 aufgeführt sind.

Tabelle 4

Begasungszeit	2	3	4	5	6	7	8	Kontrolle
---------------	---	---	---	---	---	---	---	-----------

Mechan. u. biolog.

gereinigtes

Abwasser

S. enteritidis	+	-	-	-	-	-	-	+
S. typhimurium	+	+	+	-	-	-	-	+
S. paratyphi B	+	+	-	-	-	-	-	+
S. cairo	+	+	-	-	-	-	-	+
S. manchester	+	+	+	-	-	-	-	+
S. anatum	+	+	-	-	-	-	-	+

Häusliches

Abwasser

S. enteritidis	+	+	-	-	-	-	-	+
S. typhimurium	+	+	+	-	-	-	-	+
S. paratyphi B	+	+	-	-	-	-	-	+
S. cairo	+	+	-	-	-	-	-	+
S. manchester	+	+	+	-	-	-	-	+
S. anatum	+	+	-	-	-	-	-	+

Schlachthof

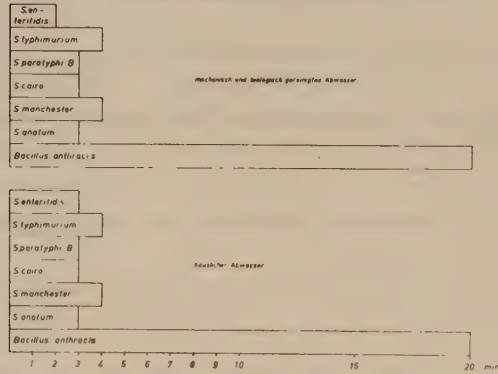
Abwasser

S. enteritidis	+	+	+	-	-	-	-	+
S. typhimurium	+	+	+	+	+	-	-	+
S. paratyphi B	+	+	+	-	-	-	-	+
S. cairo	+	+	+	+	-	-	-	+
S. manchester	+	+	+	+	+	-	-	+
S. anatum	+	+	+	-	-	-	-	+

+ = noch anzüchtbar

- = nicht mehr anzüchtbar

Überlebenszeiten bei Ozonisierung von Salmonellen und Milzbrandbazillen-Sporen
in natürlichen erwässigten Medien bei Zimmertemperatur



Überlebenszeiten bei Ozonisierung von Salmonellen und Milzbrandbazillen-Sporen in natürlichen erwässigten Medien bei Zimmertemperatur

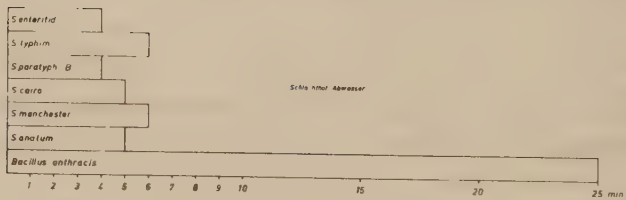


Abb. 4 und 4 a: Graphische Darstellung zu Tab. 4 und 4 a

Tabelle 5: Salmonellen

Ozoni- sie- rungs- zeit t	Verbrauch an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml bei Ti- tration der Flaschen $\text{F}_2 + \text{F}_3$ (s. Skizze II) $\times 2,4 = \text{O}_3$ - Menge	Gesamt- O_3 - Erzeugung und Durch- leitung in t	Titration der Flasche F_1 : (s. Skizze II) Verbrauch an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml $\times 2,4 =$ O_3 -Gehalt	Differenz: (3) - [(2) + (4)] = O_3 -Zer- fall bzw. -verbrauch
min.	mg	mg	mg	mg
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)

Mechan. u. biolog. gereinigtes Abwasser

1	5,2=12,48	19	0,6=1,44	5,08
2	10,4=24,96	38	0,7=1,68	11,36
3	15,6=37,44	57	0,7=1,68	17,88
4	20,3=48,72	76	0,7=1,68	25,60
5	26,0=62,40	95	0,7=1,68	30,92
6	31,2=74,88	114	0,7=1,68	37,44
7	34,6=83,04	133	0,7=1,68	48,28
8	37,1=89,04	152	0,7=1,68	61,28

Häusliches Abwasser

1	5,1=12,24	19	0,6=1,44	5,32
2	10,2=24,48	38	0,6=1,44	12,08
3	15,3=36,72	57	0,6=1,44	18,84
4	20,0=48,00	76	0,6=1,44	26,56
5	25,5=61,20	95	0,6=1,44	32,36
6	30,5=73,20	114	0,6=1,44	39,36
7	33,8=81,12	133	0,6=1,44	50,44
8	36,7=88,08	152	0,6=1,44	62,48

Schlachthof-Abwasser

1	4,8=11,52	19	0,5=1,20	6,28
2	8,8=21,12	38	0,5=1,20	15,68
3	13,6=32,64	57	0,5=1,20	23,16
4	18,2=43,68	76	0,5=1,20	31,12
5	22,6=54,24	95	0,5=1,20	39,56
6	27,7=66,48	114	0,5=1,20	46,32
7	31,5=75,60	133	0,5=1,20	56,20
8	35,3=84,72	152	0,5=1,20	66,08

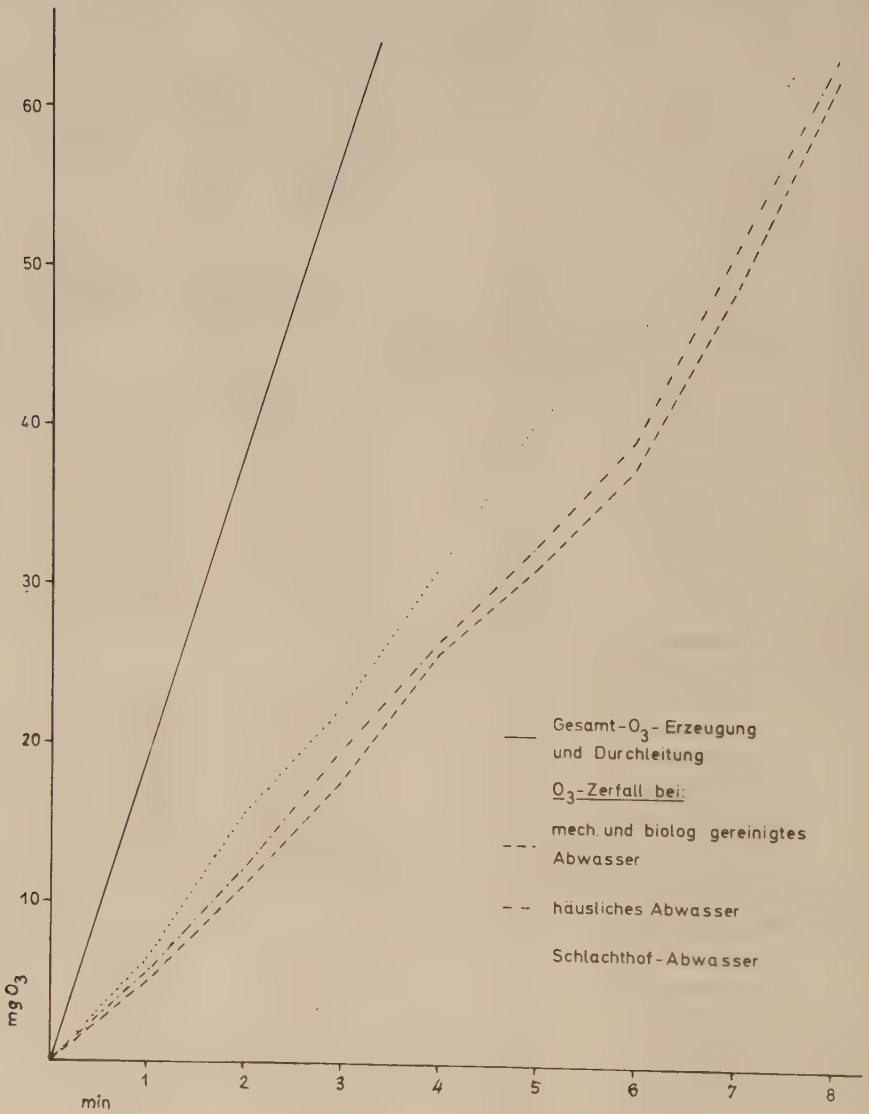


Abb. 5: Graphische Darstellung zu Tabelle 5

4. Ozonisierungsversuche mit Bacillus anthracis in Abwässern

Versuchsanordnung und -bedingungen, siehe III/2.

Tabelle 4 a

Begasungszeit min.	5	10	15	20	25	30	35
--------------------	---	----	----	----	----	----	----

Mechan. u. biolog.

gereinigtes Abwasser

Bac. anthracis	+	+	+	+	-	-	-
----------------	---	---	---	---	---	---	---

Häusliches Abwasser

Bac. anthracis	+	+	+	+	-	-	-
----------------	---	---	---	---	---	---	---

Schlachthof-Abwasser

Bac. anthracis	+	+	+	+	+	-	-
----------------	---	---	---	---	---	---	---

+ = noch anzüchtbar

- = nicht mehr anzüchtbar

Vor jedem Ozonisierungsversuch erfolgte eine Überimpfung von je 2 Tropfen der Sporenverdünnung ($2 \times 10^5/\text{ml}$) auf jeweils 2 Agar-Agar-Platten und 2 Blutagarplatten. Jede Kontrollplatte zeigte nach 24-stündiger Bebrütung bei $+37^\circ\text{C}$ das charakteristische Wachstum von Bacillus anthracis.

Tabelle 6: Milzbrandsporen

Ozoni- sie- rungs- zeit t	Verbrauch an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml bei Ti- tration der Flaschen $\text{F}_2 + \text{F}_3$ (s. Skizze II) $\times 2,4 = \text{O}_3$ -Menge	Gesamt- O_3 - Erzeugung und Durch- leitung in t	Titration der Flasche F_1 : (s. Skizze II) Verbrauch an 1/10 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in ml $\times 2,4 =$ O_3 -Gehalt	Differenz: (3) - [(2) + (4)] $= \text{O}_3$ -Zer- fall bzw. -verbrauch
------------------------------------	--	--	---	--

min.	mg	mg	mg	mg
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)

Mechan. u. biolog. gereinigtes Abwasser

5	23,2= 55,68	95	0,7=1,68	37,64
10	45,1=108,24	190	0,7=1,68	80,08
15	63,7=152,88	285	0,7=1,68	130,44
20	81,5=195,60	380	0,7=1,68	182,72
25	86,1=206,64	475	0,7=1,68	266,68
30	88,3=211,92	570	0,7=1,68	356,40
35	91,3=219,12	665	0,7=1,68	444,20

Häusliches Abwasser

5	22,3= 53,52	95	0,6=1,44	40,04
10	44,4=106,56	190	0,6=1,44	82,00
15	59,6=143,04	285	0,6=1,44	140,52
20	71,8=172,32	380	0,6=1,44	206,24
25	77,9=186,96	475	0,6=1,44	286,60
30	79,4=190,56	570	0,6=1,44	378,00
35	81,7=196,08	665	0,6=1,44	467,48

Schlachthof-Abwasser

5	21,8= 52,32	95	0,5=1,20	41,48
10	43,4=104,16	190	0,5=1,20	84,64
15	58,3=139,92	285	0,5=1,20	143,88
20	70,9=170,16	380	0,5=1,20	208,64
25	75,5=181,20	475	0,5=1,20	292,60
30	78,0=187,20	570	0,5=1,20	381,60
35	80,8=193,92	665	0,5=1,20	469,88

Jeder Wert, in den Tabellen 2, 3, 5 und 6 angegeben, stellt den Durchschnittswert von jeweils 10 Versuchen dar.

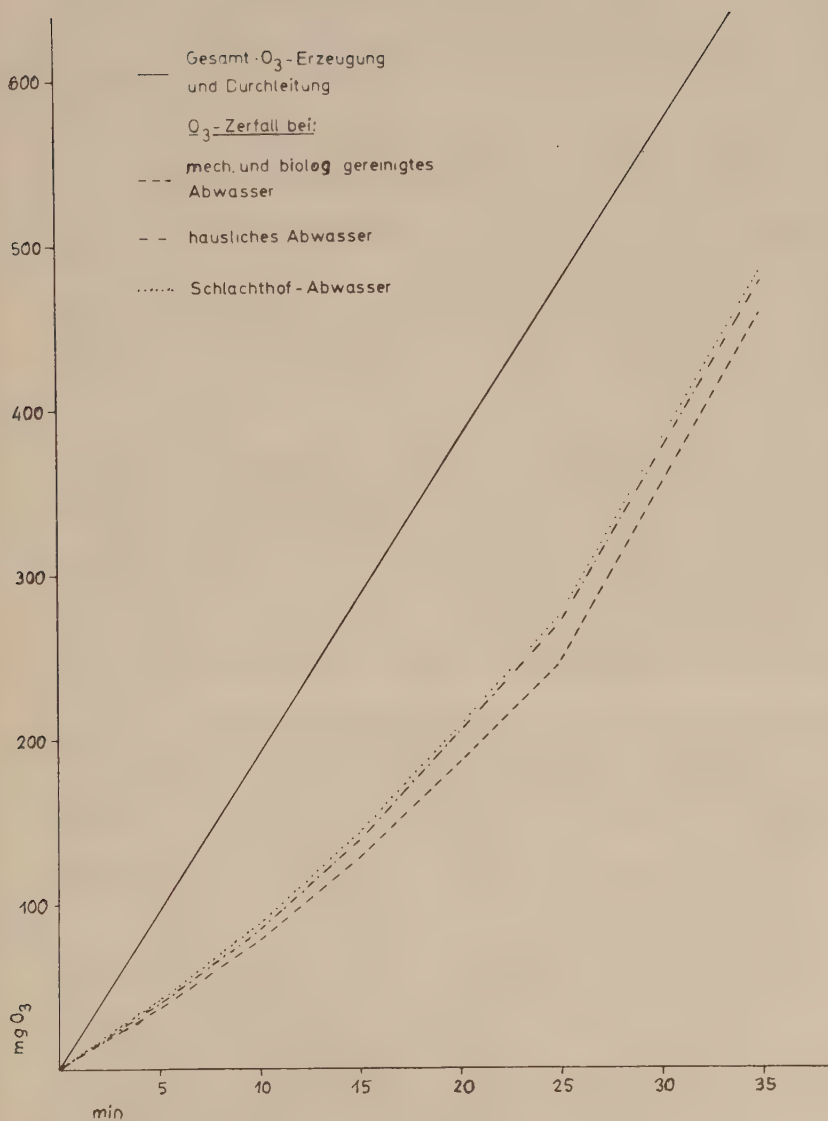


Abb. 6: Graphische Darstellung zu Tabelle 6

IV. Besprechung der Ergebnisse

Bei der Ozonisierung von Salmonellen und Milzbrandsporen findet in den Versuchen eine Desinfektion der verschiedenen Lösungen statt. Die Resistenz der einzelnen Salmonella-Stämme gegenüber Ozon ist jedoch unterschiedlich. *S. typhimurium* und *S. manchester* erweisen sich als widerstandsfähiger gegen eine direkte O_3 -Begasung als die anderen verwendeten Spezies.

Während *S. enteritidis* in einer Lösung von 20 mg Albumin/l schon nach 3 Minuten (O_3 -Verbrauch = 17,88 mg, s. Tabelle 2, Spalte 5) nicht mehr anzüchtbar ist, werden *S. paratyphi* B und *S. cairo* erst nach 4 Minuten (24,88 mg O_3) abgetötet. Die längste Lebensdauer wird bei *S. typhimurium* und bei *S. manchester* festgestellt. Es vergehen bis zu deren Abtötung 5 Minuten, bei einem O_3 -Verbrauch von 31,40 mg.

Eine erhöhte Tenazität der Salmonellen ergibt sich in einer Lösung von 320 mg Albumin/l. *S. enteritidis* ist erst nach 4 Minuten (O_3 -Verbrauch = 27,28 mg, s. Tabelle 2, Spalte 5) nicht mehr nachzuweisen, *S. paratyphi* B und *S. cairo* nach 5 Minuten (35,48 mg O_3), *S. typhimurium* und *S. manchester* hingegen erst nach 6 Minuten (114 mg O_3). *S. anatum* erfährt in der höher konzentrierten Lösung keine erhöhte Lebensdauer.

Die O_3 -Begasung von Milzbrandsporen ergibt sowohl in einer Lösung von 20 mg Albumin/l, als auch in einer 320 mg/l konzentrierten Albuminlösung eine Abtötung nach 25 Minuten (O_3 -Verbrauch = 264,28 mg bzw. 290,68 mg, s. Tabelle 3, Spalte 5).

Bei den Ozonisierungsversuchen mit Salmonellen in mechanisch und biologisch gereinigtem Abwasser ergeben sich gleiche Abtötungszeiten wie bei den Versuchen mit 20 mg Albumin/l.

Im Häuslichen Abwasser überleben *S. enteritidis*, *S. paratyphi* B, *S. anatum* und *S. cairo* 3 Minuten lang und sind nach 4 Minuten Begasungszeit (O_3 -Verbrauch = 26,56 mg, s. Tabelle 5, Spalte 5) nicht mehr anzüchtbar. *S. typhimurium* und *S. manchester* leben erst nach 5-minütiger Ozonisierung (32,36 mg O_3) nicht mehr. Eine weitere Steigerung ihrer Widerstandsfähigkeit gegenüber Ozon erfahren die Salmonellen im Medium

Schlachthofabwasser: *S. enteritidis*, *S. paratyphi* B und *S. anatum* überleben eine Begasungszeit von 4 Minuten und sind nach 5 Minuten Ozonisierung (39,56 mg O_3) abgetötet. *S. cairo* ist nach 6 Minuten (46,32 mg O_3), *S. typhimurium* und *S. manchester* sind erst nach 7-minütiger Ozonisierung (56,20 mg O_3) nicht mehr nachzuweisen.

Sowohl im mechanisch und biologisch gereinigten Abwasser als auch im Häuslichen Abwasser widerstehen die Milzbrandsporen einer Begasungszeit von 20 Minuten und sind erst nach 25 Minuten (O_3 -Verbrauch = 266,68 mg bzw. 286,60 mg, s. Tabelle 6, Spalte 5) abgetötet.

In Schlachthofabwasser verbracht, werden 30 Minuten Begasungszeit (381,60 mg O_3) benötigt, um die Milzbrandsporen zu vernichten.

In den Medien mit höherem Eiweißgehalt ist eine deutliche Steigerung der Tenazität sowohl von Salmonellen, als auch von Milzbrandsporen festzustellen. Daraus wird gefolgert, daß das durchgeleitete Ozon zur Oxydation der im Medium vorhandenen organischen Inhaltsstoffe herangezogen wird. Diese O_3 -Mengen stehen somit nicht zur Verfügung, um an der Bakterienzelle wirksam zu werden. Die O_3 -Konzentration in den jeweiligen Medien bleibt konstant (s. Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 4).

Lösungen mit geringem Eiweißgehalt (20 mg Albumin/l und mechanisch und biologisch gereinigtes Abwasser) beinhalten 0,48 mg mehr an Ozon als das eiweißreiche Schlachthofabwasser. Das Häusliche Abwasser und die Lösung 320 mg Albumin/l stehen mit ihrem O_3 -Gehalt dazwischen (s. Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 4).

Ozon ist eine sehr instabile Verbindung, es zerfällt sehr schnell in Sauerstoff. Nach 20-minütiger Ozonisierung wird festgestellt, daß bereits über 50 % O_3 zerfallen sind (s. Tabellen 3 und 6, Spalte 5).

Ein großer Teil davon zerfällt aber spontan ohne die Mitwirkung von oxydablen Substanzen; deshalb wird hier durch Titration der Flaschen F_2 und F_3 (s. Skizze II) der nicht verbrauchte bzw. nicht zerfallene O_3 -Anteil ermittelt (s.

Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 2). Die Differenz von Gesamt- O_3 -Erzeugung und -durchleitung in der Zeiteinheit (s. Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 3), dem O_3 -Gehalt des Mediums in Flasche F_1 (s. Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 4) und der titrierten O_3 -Menge in den Flaschen F_2 und F_3 (s. Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 2), ergibt den O_3 -Zerfall in der Zeiteinheit (s. Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 5).

Die Löslichkeit von Ozon im entsprechenden Medium ist begrenzt. Es wird bei Ozonisierung der Bakteriensuspensionen ein stabil verbleibender O_3 -Gehalt erreicht. Dieser allein ist aber nicht verantwortlich für die bakterizide Wirksamkeit. Ozon wirkt ja bekanntlich desinfizierend auf Grund seines Zerfalls in Sauerstoff, dann erst kann also ein oxydativer Angriff an der Bakterienzelle stattfinden. Bei den Begasungsversuchen ist außerdem noch zu berücksichtigen, daß nicht reines Ozon, sondern ein Ozon-Sauerstoff-Gasgemisch in die Lösungen eingeleitet wurde. Damit sind auch zweifelsohne primär O_2 -Mengen an den oxydativen Prozessen beteiligt gewesen.

V. Schlußfolgerung

Für die Laborversuche und die generelle Überprüfung der bakteriziden Wirksamkeit von Ozon wurde die direkte Ozonisierung der Medien gewählt. Die dabei verwendete O_3 -Menge war sehr groß im Verhältnis zu der zu begasenden Flüssigkeitsmenge.

Der Ozoneur erzeugte 1 140 mg O_3 /h bei einer O_2 -Gaszufuhr von 20 l/h. Die Ozonausbeute pro Liter zugeführten Sauerstoffs betrug demnach 57 mg. Es kam zwangsläufig zu einem großen Ozonüberschuß, welcher nicht für die Oxydation sowohl der im Medium vorhandenen organischen Inhaltsstoffe, als auch der eingebrachten Bakterien benötigt wurde. Eine möglichst feinblasige Verteilung des Ozon-Sauerstoffgemisches im Medium war nicht erforderlich, da eine unverhältnismäßig hohe O_3 -Konzentration zur Verfügung stand. Die Ozonsättigung der Bakteriensuspensionen wurde deshalb auch schnellstens erreicht.

Der O_3 -Gehalt der Bakteriensuspensionen in Flasche F_1 (s. Skizze II) wurde jeweils nach der Ozonisierung durch Titration ermittelt (s. Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 4). Nachdem ein bestimmter Spiegel erreicht worden war, blieb dieser, unabhängig von der Ozonisierungszeit, konstant (s. Tabellen 2, 3, 5 und 6, Spalte 4).

Salmonellen wurden in eiweißarmen Flüssigkeiten spätestens nach 5 Minuten abgetötet.

In eiweißreichen Medien trat eine Verzögerung der Keimtötungszeiten ein, der Letaleffekt wurde erst nach 7-minütiger Ozonisierungszeit erreicht.

Milzbrandsporen wurden in wenig belasteten Wässern nach einer O_3 -Einwirkungszeit von 25 Minuten zerstört. In sehr stark belasteten, eiweißreichen Abwässern überlebten sie die O_3 -Begasung nach 25 Minuten und waren endgültig dann nach 30 Minuten Kontaktzeit abgestorben. Im Hinblick auf die Anwendungsmöglichkeit von Ozon in der Abwasserbehandlung, wären an dieser Stelle einige Anregungen zu geben.

Eine generelle Entkeimung von Abwässern mit Hilfe von Ozon, vor deren Einleitung in die Abwasserreinigungsanlagen, also eine sog. "Quellendesinfektion", wäre vorzuschlagen.

Sehr stark verschmutzte Abwasserarten, wie zum Beispiel das Schlachthofabwasser, haben durch ihren hohen Gehalt an organischen Inhaltsstoffen eine große O_3 -Zehrung. Um diese flüssigen Abgänge zu entseuchen, sind somit höhere O_3 -Konzentrationen und eine längere Kontaktzeit des Wassers mit Ozon notwendig.

Die Wirtschaftlichkeit einer O_3 -Anlage und die schnelle Entseuchung dieser Abwässer ist nur zu erzielen, wenn größere Eiweiß- und Schmutzstoffe, bei Schlachthofabwasser zum Beispiel Darmteile und Magen-Darm-Inhalt, von vornherein nicht in die flüssigen Abgänge eingeschwenkt werden.

Unsere Fließgewässer sind derart belastet, daß sie allein nicht mehr in der Lage sind, mit Hilfe ihrer natürlichen Selbstreinigungskräfte eine abschließende Klärung des Wassers zu erreichen.

Die Vorteile einer O_3 -Behandlung des Abwassers gegenüber einer Chlorierung sind folgende:

1. Es werden relativ geringe Ozonmengen benötigt,
2. der Entkeimungseffekt tritt sehr schnell ein,
3. die Wirkung der O_3 -Desinfektion ist weitgehend pH-unabhängig,
4. durch die Ozonisierung werden keine Fremdstoffe dem Wasser beigegeben,
5. es erfolgt durch eine Ozonbehandlung des Wassers eine zusätzliche Anreicherung mit Sauerstoff und damit eine Unterstützung der biologischen Selbstreinigungskräfte.

Zur Erzeugung von 1 kg O_3 , bei Verwendung von O_2 -Gas, sind nach AXT (1) 10 - 15 kW/h und 3,6 - 2,3 kg O_2 -Gas erforderlich. Die Gewinnung von 1 kg O_3 aus atmosphärischer Luft benötigt einen Energiebedarf von 16 - 19 kW/h (RÖMPP 39). Die reinen Erzeugungskosten von 1 kg O_3 aus atmosphärischer Luft belaufen sich also, bei einem kW-Preis von 7 Dpf., auf

1,12 - 1,33 DM. Verwendet man nun ein Ausgangsgas von 10 g O_3/m^3 Wasser, so betragen die reinen Ozon-Erzeugungskosten für 1 m^3 Wasser = 1,1 - 1,3 Dpf.

Die Amortisationszeit einer O_3 -Anlage sollte etwa 10 - 15 Jahre betragen.

Der O_3 -Zusatz muß sich jeweils nach der Beschaffenheit des Wassers richten. Einen groben Anhaltspunkt gibt die Bestimmung des Kaliumpermanganatverbrauches. Ein Zusatz von 5 - 10 g O_3/m^3 Wasser, bei einer Kontaktzeit von 10 - 25 Minuten, dürfte im allgemeinen ausreichen. So wäre der allzu großen Belastung unserer Abwasserreinigungsanlagen durch unbehandelte Abwässer entgegengetreten.

VI. Zusammenfassung

Es findet bei der direkten Ozonisierung von Bakteriensuspensionen in verschiedenen eiweißhaltigen Medien eine Abtötung sowohl von Salmonellen ($10^{10} - 10^{12}/\text{ml}$), als auch von Milzbrandbazillen ($2 \times 10^7/\text{ml}$) statt. In einer Lösung von 20 mg Albumin/l sind *S. enteritidis* nach einer O_3 -Begasung von 3 Minuten (O_3 -Verbrauch = 17,88 mg), *S. paratyphi* B, *S. anatum* und *S. cairo* nach 4 Minuten (24,38 mg O_3), *S. typhimurium* und *S. manchester* erst nach 5 Minuten (31,40 mg O_3) nicht mehr anzüchtbar. Bei Begasungsversuchen mit Häuslichem Abwasser erfolgt bei *S. enteritidis*, *S. paratyphi* B, *S. anatum* und *S. cairo* nach 4 Minuten (26,56 mg O_3), bei *S. typhimurium* und *S. manchester* nach 5 Minuten (32,36 mg O_3) eine Abtötung.

In Schlachthofabwasser verbracht, sind *S. enteritidis*, *S. paratyphi* B und *S. anatum* nach 5-minütiger Ozonisierung (39,56 mg O_3), *S. cairo* nach 6-minütiger (46,32 mg O_3), *S. typhimurium* und *S. manchester* erst nach 7-minütiger Ozonisierung (56,20 mg O_3) nicht mehr nachzuweisen.

Milzbrandsporen werden in einer Lösung von 20 mg Albumin/l nach 25 Minuten (264,28 mg O_3) abgetötet.

Im mechanisch und biologisch gereinigten und im Häuslichen Abwasser vergehen ebenso 25 Minuten bis zur Abtötung der Milzbrandbazillen (266,68 bzw. 286,60 mg O_3). Im Medium Schlachthofabwasser werden Milzbrandsporen nach 30 Minuten Begasungszeit (381,60 mg O_3) abgetötet. Die O_3 -Konzentrationen in den jeweiligen Medien bleiben unabhängig von der Begasungszeit konstant.

VII. Literaturverzeichnis

1. AXT, G.: Über ein indirektes Verfahren zur Wasser-
ozonisierung und dessen apparative und
physikalisch-chemische Grundlagen.
Jahrb. v. Wasser Bd. XXV, 93-106 (1958)
(Dissertation TH Karlsruhe 1958)
2. BELING, A.: Nachweis von Keimen der Salmonella-Gruppe
im Abwasser mit Hilfe der Membranfilter-
Methode auf Wismutsulfitagar.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 170, 137-145
(1957)
3. BERGER, K.: Über den Betrieb der Ozonanlage Köniz-
berg der Wasserversorgung Bern.
GWf 105. Jahrg. H. 48, 1338-1343 (1964)
4. BERGMANN, G.,
GÖTZE, U.: Beitrag zum Vorkommen von Salmonellen in
Schlachthofabwässern und zur Frage einer
Behandlung des Abwassers vor seiner Ab-
leitung aus dem Schlachthof.
"Die Fleischwirtschaft" H. 6, 626-631
(1965)
5. BRINGMANN, G.: Versuche zur quantitativen Bestimmung der
letalen Wirksamkeit von Chlor und Ozon auf
Escherichia coli.
Zeitschr. f. Hyg. Bd. 139, 130-139 (1954)
6. BRINGMANN, G.: Die Wirkung von Ozon auf Organismen des
Trinkwassers.
Zeitschr.f. Hyg. Bd. 139, 333-337 (1954)
7. BRUNNER, G.: Die Widerstandsfähigkeit von Enteritis-
bakterien gegen die Klärschlammfäulnis
und gegen das Eintrocknen in ausgefaultem
Schlamm.
Ges.Ing. 73, 19-21 (1952)

- 7 a. BRUNNER, G.: Die Widerstandsfähigkeit von Gärtnerbakterien (*S. enteritidis*) gegen die Klärschlammfäulnis in einem beheizten Faulturm. Münch. Beiträge z. Abwasser-, Fischerei- und Flußbiologie, 3, 23-32, Verlag Oldenbourg, München 1956.
8. BULLING, E.: Die Bedeutung der Salmonellosen auf dem Gebiet der Öffentlichen Gesundheit. (in franz. Sprache veröffentlicht)
Bull.Off. int. Epiz., 58, 453-482 (1962)
9. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. III. Auflage.
Verlag Chemie, G.m.b.H., Weinheim/Bergstr. 1960.
10. ENDO, S.: Über ein Verfahren zum Nachweis von Typhusbazillen.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig., 35, 109-110 (1903)
11. FRESENIUS, W.,
G. JANDER: Handbuch der analytischen Chemie II. Teil,
Bd. VIa, 100-182.
Berlin, Göttingen, Heidelberg
Springer-Verlag 1953
12. FRIES, K.A.: Eine einfache Methode zur genauen Bestimmung der Bakterienmengen in Bakteriensuspensionen.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig., 86, 90-96 (1921)
13. GASSNER, G.: Ein neuer Dreifarben Nährboden zur Typhus-Ruhr-Diagnose.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig., 80, 219-222
(1918)
14. GILLISSEN, G.,
D. LUST: Zur Differenzierung von Milzbrandbazillen und milzbrandähnlichen Sporenbildnern und die Bedeutung ihres Vorkommens in Abwässern.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig., 156, 99-107
(1950/51)

15. HALLMANN, L.: Bakteriologische Nährböden.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1953
16. HEINRICH, S., Ein Beitrag zur Methodik des Salmonella-
G. PULVERER: Nachweises in Abwasser, Flußwasser und
Schlamm.
Zschr. Hyg. Infekt.-Kr. 145, 529-542
(1959)
17. HEMMERT-HALSWICK, Die hygienischen und landwirtschaftlichen
A., O. GEBAUER: Forderungen bei der Abwasserverregnung.
Ges. Ing. 63, 190-191 (1940)
18. HETTCHE, O., H.W. Epidemiologie und Prophylaxe der Polio-
SCHULZ-EHLBECK: myelitis im Hinblick auf die Rolle des
Wassers auf die Übertragung.
Arch. f. Hyg. u. Bakt., 137, 440-449
(1953)
19. HODER, F.: Eine gelungene Anreicherung von Para-
typhus B aus Bachwasser.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 102, 427-428
(1927)
20. HOLLUTA, J.: Das Ozon in der Wasserchemie.
GWf 104.Jahrg. H. 44, 1261-1271 (1963)
21. IMHOFF, K.: Taschenbuch der Stadtentwässerung.
18. Auflage.
R. Oldenbourg Verlag, München 1960
22. KAUFFMANN, F.: Weitere Erfahrungen mit dem kombinierten
Anreicherungsverfahren für Salmonella-
bakterien.
Zschr. Hyg. Infekt.-Kr. 117, 26-32 (1936)
23. KAUFFMANN, F.: Zur Geschichte der Salmonella-Forschung.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 201, 44-48 (1966)

24. KLIGLER, I.J.: Modifications of culture media used in the isolation and differentiation of typhoid, dysentery and allied bacilli. J. exp. Med. 28, 319-322 (1918)
25. KNAPP, W.: Über Entkeimungsversuche mit einer Ozonisierungs-Versuchsanlage "System Blatter". Arch. f. Hyg. u. Bakt. 130, 426-434 (1952)
26. KROKE, R.: Warum das Ozonverfahren vor 30 Jahren nicht zum Erfolg geführt hat und welche Aussichten heute bestehen. Jahrb. v. Wasser, Bd. XX, 194-208 (1953)
27. KUDICKE, R.: Die Bedeutung der in Deutschland durch Wasser verbreiteten ansteckenden Krankheiten. "Der prakt. Desinf." 45. Jahrg., H. 5/6, 215-219 (1953)
28. LANG, K.: Über das Problem der universellen Menschenpathogenität der Salmonellen.
I. Mitteilung: Die Humanpathogenität der Erreger spezifischer tierischer Salmonellen. Dt. tierärztl. Wschr. 68, 305-308 (1961)
II. Mitteilung: Die Humanpathogenität der "seltenen Salmonellen". Dt. tierärztl. Wschr. 68, 474-477 (1961)
29. LEIFSON, E.: New selenite enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid (Salmonella) bacilli. J. Hyg. 24, 423-427 (1936)
30. LERCHE, M.: Epidemiologie der Breslaubakterien. Dt. tierärztl. Wschr. 47, 225-226 (1939)

31. LEUCHS, J.: Über den Nachweis von Typhus- und Paratyphusbazillen durch Anreicherung.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 102, 428-432
(1927)
32. LIEBMANN, H., J. BOCH: Landwirtschaftliche Abwasserverwertung
und Verwurmung der Haustiere.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 69,
208-211 (1956)
33. LÜTJE, F.: Paratyphuserkrankungen, verursacht durch
das Bacterium Enteritidis Gärtneri bei
erwachsenen Rindern.
Dt. tierärztl. Wschr. 34, 453-459 (1926)
34. MÜLLER, W.: Untersuchungen über die Lebensfähigkeit
von Salmonellen bei der anaeroben alkali-
schen Schlammfäulung im beheizten und un-
beheizten Faulraum.
Vet.-Med. Dissert. Gießen 1967
35. NAUMANN, E.: Gutes Trinkwasser -
Anspruch und Erfüllung.
GWf 105. Jahrg., H. 42, 1145-1150 (1964)
36. OHLMÜLLER, Dr.: Über die Einwirkung des Ozons auf Bakte-
rien.
Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheits-
amte, Bd. VIII, 229-251 (1892)
37. PFUHL, E.: Vergleichende Untersuchungen über die
Haltbarkeit der Ruhrbazillen und der
Typhusbazillen außerhalb des menschi-
chen Körpers.
Zschr. Hyg. Infekt.-Kr. 40, 555-556 (1902)
38. PREUSS, H.: Über eine neue Tetrathionatanreicherung.
Zschr. Hyg. Infekt.-Kr. 129, 187-214
(1946)

39. RÖMPP, H.: Chemie Lexikon, 6. Auflage.
Francksche Verlagshandlung
Stuttgart 1966
40. ROCHAIX, A.: Experiments on the persistence and
disappearance of pathogenic bacteria
in sewage.
Ann. D'Hyg. 8, 669 (1930)
zit. nach RUDOLFS, FALK, RAGOTZKIE
41. RUCHHOFT, C.D.: Studies on the longevity of *B. typhosus*
in sewage sludge.
Sew. Works Journ. 6, 1054-1067 (1934)
42. RUDOLFS, W., Literature review on the occurrence and
L.L. FALK, survival of enteric, pathogenic and
R.A. RAGOTZKIE: relativ organisms in soil, water, sewage
and sludges, and on vegetation.
Sew. a. Ind. Wastes 22, 1261-1281 (1950)
43. SCHAAL, E.: Schlachthofabwässer und ihre hygienische
Bedeutung.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 72, 66-70
(1959)
44. SCHAAL, E.: Die Biologie der Salmonellen im eiweiß-
haltigen Abwasser.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 74, 21-24
(1961)
45. SCHAAL, E.: Über eine durch Bachwasser verursachte
Salmonella-Enzootie in einem Rinderbe-
stand.
Dt. tierärztl. Wschr. 70, 267-268 (1963)
46. SCHENK, P.: Die Wasseraufbereitung des Wasserwerkes
Düsseldorf "Am Staad".
Gwf Jahrg. 103, H. 30, 791-798 (1962)

47. SEISER, A.: Über die biologischen Grenzen der landwirtschaftlichen Verwertung städtischer Abwässer.
Ges. Ing. 63, 571-574 (1940)
48. SOBERNHEIM, G.: In: Kolle-Kraus-Uhlenhut:
Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.
Bd. III/2, 3. Auflage.
G. Fischer, Jena, Urban und Schwarzenberg, Berlin - Wien 1931
49. STLINIGER, F.: Über eine kleine Paratyphus-B-Epidemie auf Nordstrand und ihre Beziehung zum Nordseewasser.
Zschr. Hyg. Infekt.-Kr. 132, 228-232 (1951)
50. STEINIGER, F.: Aus der Freilandbiologie der Salmonellen.
Dt. med. Wschr. 79, 1118-1120 (1954)
51. STRAUCH, D.: Über das Vorkommen von Salmonellen in Futtermitteln, Abwasser, Wasser und Boden.
Wiener tierärztl. Moschr. 51, 756-767 (1964)
52. STRAUCH, D.,
W. MÜNKER: Bakteriologische Wasseruntersuchungen in einem oberhessischen Fluß in Zusammenhang mit in diesem Flußtal aufgetretenen Salmonellen-Infektionen des Menschen.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 69, 205-208 (1956)
53. ULBRICH, F.: Vorlesung Spezielle Mikrobiologie an der Universität Gießen im Wintersemester 1964/65.

Am Ende dieser Arbeit danke ich Herrn Professor Dr.
D. Strauch sehr herzlich für die Überlassung des
Themas.

Mein Dank gilt auch der Fa. Gebrüder Hermann in Köln-
Ehrenfeld, Grüner Weg 5, für die leihweise Überlas-
sung des Ozoneurs für die Dauer der Versuche.

Herrn Supphan bei der Fa. Gebr. Hermann möchte ich
besonders herzlich für seine Beratung danken.

VIII. Lebenslauf

Am 17.8.1939 wurde ich, Roland Wörner, als Sohn des Ernst Wörner und seiner Ehefrau Ella, geb. Maier, in Heilbronn/N. geboren. Von April 1945 bis April 1949 besuchte ich die Grundschule in Weinsberg/Kr.Heilbronn und anschließend 6 Jahre das dortige Progymnasium. Im Frühjahr 1955 wechselte ich über in das Justinus Kerner-Gymnasium in Heilbronn und schloß dieses mit dem Abitur im März 1959 ab.

Im Sommersemester 1959 begann ich in München mit dem Studium der Tiermedizin und schrieb mich dann im Sommersemester 1963 an der Justus Liebig-Universität in Gießen ein. Am 23.9.1966 legte ich in Gießen das Staatsexamen ab. Meine Praktikantenzeit leistete ich bei Herrn Dr. J. Eschweiler in Erkelenz (Rhld.) ab und erhielt am 1.5.1967 meine Approbation als Tierarzt. Seitdem bin ich als Vertreter in der tierärztlichen Praxis tätig.

Die vorliegende Arbeit fertigte ich in der Zeit vom September 1967 bis November 1968 an.

